LIBRARY —
15 FEB 1940
E&A

ARCHIVES ROUMAINES

DE

PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE

ET DE

MICROBIOLOGIE

Fondées par J. CANTACUZÈNE

Dirigées par

C. IONESCO-MIHAIESTI, A. CIUCA et M. CIUCA

Tome 11. — N° 3

Septembre 1938

MASSON & Cie, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS

SOMMAIRE DU N° 3

Septembre 1938.

MÉMOIRES ORIGINAUX.

A. SLATINEANO, C. BARTH, G. BALMUS et P. BALMUS. — *Tumeur primitive du thymus et syndrome leucémique (lymphoïde).* 273

Ion MESROBEANU. — *Etude cytologique de l'exsudat péritonéal produit chez le singe par l'inoculation intrapéritonéale du virus de la lymphogranulomatose inguinale bénigne (maladie de Nicolas-Favre)* 289

State DRAGANESCO et D. CASANGIU. — *Etude sur les lipides biréfringents de l'ovaire et du testicule chez quelques animaux.* 299

G. DINULESCO. — *Recherches sur les Gastrophiles en Roumanie (étude systématique et biologique)* 315

Silvia IROFTI. — *Contribution à l'éude de l'action du dinitrophénol 2-4 sur le sang du lapin* 337

P.-G. SHUTE. — *The position of human malaria oocysts on the stomach of* Anopheles maculipennis 351

ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
ET DE MICROBIOLOGIE

TOME 11 *N° 3* *SEPTEMBRE 1938*

MÉMOIRES ORIGINAUX

TUMEUR PRIMITIVE DU THYMUS ET SYNDROME LEUCÉMIQUE (LYMPHOÏDE)

par

A. SLATINEANO, C. BARTH, G. BALMUS et P. BALMUS

La physiopathologie du thymus a fait l'objet de nombreuses recherches dernièrement dans le domaine des glandes endocrines ; d'ailleurs, l'étude clinique et expérimentale de cette nouvelle science a pris un tel essor qu'on ne s'étonne plus des grands progrès réalisés.

Si, au sujet de la glande thymique lympho-épithéliale, on tombe d'accord sur la structure histologique, des discussions et des controverses s'engagent, lorsqu'on veut définir l'origine et le rôle de ses cellules. Que le thymus soit une glande endocrine, c'est un fait établi, dit Zondeck, cependant désireux de nous rattacher seulement au rôle que peut jouer la cellule thymique dans les états d'hyperplasie pathologique et en dehors des troubles endocriniens ; nous constaterons alors que cette cellule prête à discussion. Est-elle d'origine épithéliale, ou d'origine lymphoïde ?

Dustin (1) soutient cette première hypothèse : pour lui, non

(1) DUSTIN (P.-A.) : « Thymus et hématopoïèse. » (*Strasbourg médical*, n° 11, 1927.)

Publication périodique trimestrielle.

seulement le thymus est privé de toute fonction hématopoïétique et lymphopoïétique, mais le thymocyte, foncièrement différent du lymphocyte, est l'élément constant formé par la glande par voie caryocynétique et détruit par voie de pycnose et caryolyse; c'est une cellule extrêmement sensible aux poisons, ainsi qu'à toutes les causes provocatrices des mitoses, et qui joue un rôle important dans le métabolisme des nucléoprotéides.

D'autre part, Margolis (1) considère la cellule thymique toute différente du lymphocyte du sang ; sur 32 cas de leucémie lymphatique, 4 fois seulement le thymus était hypertrophié ; dans ces cas encore, il n'y avait pas d'hyperplasie des cellules thymiques, mais simplement une infiltration lymphocytaire semblable à celle qui se produit au niveau des organes non lymphoïdes.

A l'encontre de ces opinions, Ghika (2) avait conclu dans sa thèse que le thymus était un organe leucoformateur des lymphocytes ; Klose, Lampe et Liesegang (3) avaient constaté que la thymectomie était suivie chez le chien d'une diminution des lymphocytes du sang et que toujours, chez le même animal, on trouvait une lymphocytose, après des injections de suc thymique. D'ailleurs, de nombreux auteurs partagent actuellement cette opinion (Ecke, Hammar, Jolly [4], et plus récemment Jolly, Feurster et Grégoire [5]).

Une différence morphologique et tinctoriale n'existant pas entre thymocyte et lymphocyte, mais seulement une différence de sensibilité, celle-ci serait due à la nature du tissu servant de charpente et non pas aux cellules elles-mêmes (Maximov, Jolly, Grégoire). A l'appui de ces constatations d'ordre expérimental s'ajoutent celles d'ordre clinique : à partir des simples hyperplasies banales des ganglions lymphatiques et du thymus, décrites par Paltauf sous le nom de « status thymolymphaticus », jusqu'à l'état d'hypertrophie du thymus et de leucémie lymphoïde aiguë ou subaiguë (nié par Hammar et Schridde), toute une transition pourrait exister. Nous tenant sur la ligne des données

(1) Margolis (H.-M.) : « Thymus gland in lymphatic leucemia. » (*Arch. of Pathology*, Chicago, 1930.)

(2) Ghika : « Etude sur le thymus. » (*Thèse de Paris*, 1901.)

(3) Klose, Lampe et Liesegang : *Chirurgie der Thymusdrüse*. Stuttgart, 1912.

(4) Pour plus de détails, voir: Roussy (G.), Leroux (R.) et Oberling (Ch.) : *Traité d'Anat. path.* Masson, 1933.

(5) Cité par Sainton, Simonnet, Brouha : *Endocrinologie*. Masson, 1937, p. 644.

cliniques, et pour raffermir la conception du rapprochement entre thymocyte et lymphocyte, nous voulons rapporter l'observation suivante avec tous les détails anatomocliniques ; cette observation nous paraît intéressante, d'abord par le fait d'une tumeur thymique primitive, ayant engendré un syndrome leucémique, ensuite par d'autres particularités cliniques que nous allons relever plus bas.

Le malade A. C..., âgé de vingt-huit ans, agriculteur, est admis dans l'Hôpital « Cantacuzène Pascanu », le 19 décembre 1937, pour des œdèmes généralisés, de la dyspnée d'effort et de décubitus, et pour de la toux tenace.

L'histoire de sa maladie remonte seulement à trois mois; en effet, à ce moment-là, en pleine santé, à la suite d'un traumatisme violent — par suite de coups et de blessures — qui lui causa la fracture de la cinquième côte droite, le malade se mit progressivement à souffrir, notamment dans la région traumatisée; dans les cinq semaines qui suivirent, il accusa de l'essoufflement à la moindre fatigue, puis même au repos, en même temps qu'apparaissait une toux, accompagnée d'expectoration. A la même date, les membres inférieurs commencèrent à s'enfler au cours de la journée, ensuite les enflures des jambes devinrent permanentes et gagnèrent bientôt l'abdomen et la face. L'état de santé devenu précaire, le malade se décida à se faire soigner dans un service de clinique.

Ses antécédents sont peu chargés : la rougeole dans l'enfance; le paludisme, il y a trois ans, et puis le traumatisme signalé plus haut.

A l'examen clinique, on constate :

1° Appareil respiratoire : matité aux deux bases, plus étendue du côté droit ; respiration diminuée aux mêmes endroits ; de plus, l'auscultation signale des râles bronchiques dans les deux poumons avec une respiration soufflante dans l'axile gauche; un léger souffle tubo-pleural dans l'axille droite; enfin la palpation révèle les suites d'une fracture de la cinquième côte droite dans son arc antérieur. Pas de bacilles de Koch dans les crachats.

2° Appareil cardio-vasculaire : la matité précordiale dépasse le rebord sternal droit et s'étend de beaucoup plus à gauche qu'à l'état normal; le choc apexien se perçoit dans le sixième espace intercostal gauche, l'auscultation montre une tachycardie modérée, plus accusée à l'effort; une ébauche de bruit de galop à la pointe; pas de souffles orificiels. T. A. : 16 1/2-11 1/2 au Pachon.

3° Le tube digestif n'est pas intéressé, à part l'inappétance; il n'y a pas d'angine, ni d'hémorragies; pas de fièvre non plus. L'abdomen a un périmètre de 80 centimètres; ses parois sont infiltrées d'œdèmes; la percussion indique un météorisme modéré; la palpation révèle un gros foie, dépassant d'un travers de main le rebord des fausses côtes droites; la rate est palpable et sensible; la matité abdominale, mobile avec la position, est plus accusée dans l'hypogastre, où l'on perçoit la sensation de flot transabdominal. Dans les deux régions inguinales, on sent, à la palpation, des ganglions mobiles non douloureux de la grosseur d'un grain de maïs.

4° L'appareil uro-génital : urine normale de volume et densité; elle contient des traces d'albumine et un sédiment chargé en cristaux d'acides uriques et un dépôt d'urates.

5° Le système nerveux est indemne, à part des pupilles miotiques.

6° L'examen radiologique montre une absence de la transparence pulmonaire dans les deux hémithorax ; l'aspect voilé est plus marqué et plus étendu à la base droite; la région infra-claviculaire droite fait exception, car celle-ci présente une zone de clarté exagérée (pneumothorax) au niveau

de laquelle on observe un mouvement de bascule de l'arc costal droit antérieur. Le dôme diaphragmatique droit est nettement plus relevé qu'à l'état normal; les sinus costo-diaphragmatiques ne sont pas décollables. Le médiastin postérieur se trouve opacifié surtout dans les deux tiers inférieurs, avec la présence de l'air dans l'espace rétro-pharyngien.

L'ombre cardiaque, très élargie vers le côté gauche, dépasse un peu le bord droit du sternum; ces déplacements sont très réduits et notablement masqués.

Evolution : sous l'influence du repos, du régime et d'une médication diurétique (chlorure de Ca et Salyrgan), les œdèmes diminuèrent, malheureusement pour réapparaître une semaine plus tard et envahir de nouveau les membres inférieurs et la face; à cela devait s'ajouter un tirage sus-sternal, accompagné d'une dyspnée de plus en plus marquée et de la turgescence des jugulaires. L'examen des poumons décela, dans les jours qui suivirent, un souffle bronchique interscapulo-vertébral droit; un autre souffle tubo-pleurétique fut perçu à la base gauche; de plus, la matité de la base droite augmentant, une ponction pleurale fut pratiquée; celle-ci donna un liquide opalescent, à Rivalta positive et de nombreux lymphocytes sur les frottis colorés. L'augmentation du foie et de la rate, à côté de la pâleur des conjonctives, nous obligea d'effectuer un examen morphologique du sang (nous n'envisagions pas un syndrome hématopoïétique en absence d'un état infectieux, d'angine, de diathèse hémorragique, etc.); celui-ci révéla, outre une anémie de la valeur de 2.042.000 globules rouges et une hyperleucocytose de 30.800 globules blancs avec forte lymphocytose, aussi de rares schizontes de plasmodium vivax; donc un paludisme latent.

Le traitement antipaludéen, associé aux ponctions pleurales, amena un certain soulagement; cependant la dyspnée croissante (le malade préféra se tenir dans son lit en position ventrale), l'augmentation de volume de l'abdomen, bien que le foie eût regressé, ainsi que la douleur épigastrique, nous firent penser à la possibilité d'un hématome en voie de suppuration, suite de son traumatisme, malgré l'absence de fièvre. Une laparotomie exploratrice nous paraissait utile, d'autant plus que toute médication était épuisée, sans résultat appréciable, et que l'examen radiologique du tube digestif était négatif. Aussi, pensions-nous, à ce moment-là, pratiquer une biopsie du foie et de la rate, afin que nous puissions nous expliquer les modifications de la formule sanguine. Le malade fut transféré à l'Hôpital « Izolarea », où il fut soumis à une médication semblable à la nôtre. Là, les examens hématologiques furent répétés et l'on a pu voir à notre surprise l'évolution vers une leucémie lymphoïde, bien que masquée cliniquement. Le tableau ci-après indique les dates et les détails de ces examens du sang.

Dates	Gl. r.	Gl. bl.	Poly. n	Poly. E	Poly. B	Lymphocytes		Mono	Türck
						Adultes	Jeunes		
1938 :			%						
2 janv.	2.042.000	30.800	24	0	0	68	0	7	1
8 janv.	2.280.000	34.000	29,5	0,5	0	65	1	4	0
2 fév	1.670.000	32.400	30	0,5	0	65,5	0,5	3,5	0
11 fév.	—	—	26,5	0,5	0	66,5	2	3,5	1
14 fév.	1.700.000	32.900	28	0,5	0	65	2,5	4	0
26 fév.	1.736.000	159.000	9	0	0	81	7,5	2,5	0
4 mars	1.584.000	164.000	10	0	0	80,5	7	2,5	0

Ajoutons que, dans le chiffre des granulocytes neutrophiles, nous avons englobé quelques cellules plus jeunes : des métamyélocytes et des myélocytes neutrophiles. D'autre part, dans le groupe des lymphocytes adultes, nous avons réuni des cellules ayant le caractère typique lymphoïde, ainsi que des cellules petites, à gros noyaux, ébauches nucléolaires et une mince bande de protoplasma bleu sans granulation (lymphocytes jetés avant terme dans la circulation). Quant aux lymphocytes jeunes, nous entendons la cellule mère ou lymphoblaste. Dans la série des globules rouges, il y avait de l'anisocytose, poïkilocytose, polichromatophilie et des normoblastes 3-5 % du nombre des leucocytes.

Pendant son séjour à l'Hôpital « Izolarea », l'état du malade ne fit qu'empirer : la matité cardiaque croissait, tandis que les bruits du cœur devenaient de plus en plus assourdis et éloignés; la cage thoracique commençait à se bomber symétriquement au niveau des deux bases ; le foie et la rate augmentaient de volume et devenaient sensibles à la palpation. De plus, quelques ganglions se percevaient dans le creux de l'aisselle droite, de la grosseur d'un haricot ; ensuite des oscillations subfébriles accompagnaient la dyspnée, l'insomnie, les œdèmes et les épanchements pleuraux, et le malade succomba par cachexie progressive le 10 mars 1938, après une durée totale de la maladie de 79 jours.

Autopsie. — Le revêtement cutané est très pâle; les tissus musculaire et sous-cutané sont fort réduits, notamment au thorax; on remarque aussi une turgescence importante des vaisseaux des deux régions cervicales. L'abdomen, augmenté de volume, est infiltré d'œdèmes, ainsi que les membres inférieurs et surtout la face. A l'ouverture de la cavité abdominale, on trouve un peu de liquide citrin et un épiploon épaissi. La rate, augmentée de volume (400 grammes), d'aspect congestionné à la section, présente une capsule adhérente. On trouve aussi quelques ganglions hypertrophiés au hile et sur le pédicule. Le foie est très gros (4 kilos), d'aspect congestionné, avec quelques taches blanchâtres et étoilées sur sa face supérieure, probablement reliquat cicatriciel de l'ancien traumatisme; pas de modifications du parenchyme.

Les autres organes de la cavité abdominale ne présentent pas de modifications macroscopiques; cependant les ganglions mésentériques sont inégalement augmentés; quelques-uns, de la valeur d'un œuf de pigeon, offrent à la section un aspect rouge foncé. Le mésentère présente par places des taches nécrotiques de date récente, sans toutefois que les anses intestinales soient modifiées d'aspect.

L'ouverture du plastron sterno-costal permet de voir du liquide séro-citrin dans les deux cavités pleurales; de même remarque-t-on une consolidation osseuse au niveau du troisième arc costal antérieur. Les poumons atélectasiés vers les bases ne montrent pas de lésions aiguës, ou chroniques à la section; mais on rencontre cependant des adhérences pleurales à la base droite. Ce qu'il y a de plus frappant, c'est la présence d'une masse tumorale, qui s'étend : d'une part, de la face postérieure du sternum (avec lequel elle contracte des adhérences intimes), jusqu'au pédicule vasculaire du cœur et du péricarde, ainsi que de la trachée, encore en connexion étroite; d'autre part, la masse tumorale s'étend du manubrium sternal vers le diaphragme, sans toutefois y adhérer. La tumeur est de consistance dure, difficile à dégager des autres organes, d'aspect lardacé et de couleur blanc jaunâtre; pour détacher la tumeur, on est obligé de pratiquer une éviscération totale; ainsi, la dissection montre une tumeur dure de 12 × 4 × 3 centimètres, intimement adhérente aux organes voisins. Le péricarde, épaissi à ce niveau, comme une cuirasse, laisse sortir à la section une quantité appréciable de liquide citrin. Le cœur est petit et d'aspect normal.

Les ganglions trachéaux, trachéo-bronchiques et médiastinaux se trouvent hypertrophiés pour la plupart, et certains d'entre eux atteignent la grosseur

d'un œuf de pigeon ; ils sont en général isolés, ou parfois réunis en une gangue conjonctive. Rien de particulier à l'ouverture de la boîte cranienne, à part une légère congestion du cortex.

Histologie. — *Tumeur* : Si l'aspect macroscopique de la tumeur ne présentait pas de variations en ce qui concerne la consistance, la couleur, la vascularisation, etc., les coupes histologiques, bien nombreuses, des différentes zones de la masse tumorale, offrent quelques caractères à souligner. Sur un bon nombre de sections, nous observons une nappe homogène de cellules sillonnées par des bandes de tissu quasi hyalinisé; la cellule infiltrative est petite, à noyau rond, riche en chromatine et très pauvre en protoplasma; parfois la chromatine du noyau n'est plus divisée, mais densifiée et le noyau paraît pycnotique. Cette cellule correspond au lymphocyte tel qu'on le trouve dans les tissus lymphoïdes. Par endroits, on distingue des lacs sanguins, irréguliers et parsemés de cellules lymphoïdes et de pigment ocre, le tout entouré d'une mince bande conjonctive. Les vaisseaux apparaissent cependant vidés de sang et à parois épaissies (fig. 1).

D'autres coupes concernant la tumeur offrent une plage cellulaire assez dense en éléments lymphoïdes, mais divisée par de vastes bandes conjonctives en formation nodulaire, rappelant les nodules lymphatiques. Dans ces nodules hyperplasiés, il n'est pas rare de distinguer de petites formations kystiques, entourées d'un endothélium et contenant des feuillets lamellaires avec quelques débris nucléaires, toutes disposées en bulbe d'oignon : ce sont des corpuscules de Hassal involués (fig. 2). Ainsi le diagnostic histologique de l'organe thymique nous a paru confirmé. Enfin un autre aspect histologique de la tumeur est donné par des coupes concernant la périphérie. Ici le tissu conjonctif n'est plus disposé en bandes, mais en petits fragments isolés ; la trame, par contre, prend l'aspect d'un réseau épaissi dans les mailles duquel la plage cellulaire est infiniment plus distincte. A côté des cellules lymphoïdes, en proportion dominante, on trouve un mélange de cellules éosinophiles, mononucléées, de cellules à caractère épithélioïde, d'autres encore à gros noyau clair (réticulocytes) et des plasmocytes (fig 3).

Foie : La configuration hépatique est plus ou moins conservée; les cordons de Remack paraissent, pour la plupart des lobules, très amincis; là, les cellules hépatiques ont subi une dégénérescence granulo-vacuolaire intense, surtout autour des veines centro-lobulaires ; seulement la périphérie des lobules paraît être plus intègre. Les espaces portes sont infiltrés, çà et là, par de petites cellules rondes, disposées en petits amas, sans pénétrer dans les cordons hépatiques.

Rate. — L'aspect normal de la rate est bouleversé; on ne distingue que des traces de nodules lymphoïdes autour des artérioles spléniques. La trame des cordons, très épaissie, forme un réseau plus ou moins riche en cellules lymphoïdes et macrophages, tandis que les sinus se trouvent vidés de globules rouges et chargés de macrophages, bourrés de pigment ocre et d'éosinophiles mononucléés.

Reins et capsules surrénales : Pas d'altérations appréciables, ni d'infiltrations dans leurs différentes zones.

Ganglions lymphatiques (trachéo-bronchiques) : De structure effacée par l'infiltration dense de cellules lymphoïdes, ces ganglions montrent par places, de larges fentes lymphatiques, capitonnées d'un endothélium en prolifération.

Dans les sinus centraux, l'infiltration est moins dense; ces cavités aréolaires, très élargies, à parois épaisses, renferment, en dehors de cellules lymphoïdes jeunes, d'autres cellules de caractère endothéloïde et histiocytaire. La trame ganglionnaire, presque invisible, forme par places des faisceaux conjonctifs riches en fibroblastes.

Moelle osseuse : D'aspect blanc jaunâtre macroscopiquement, la moelle présente sur les coupes une grosse infiltration lymphoïde, au dépens des

éléments autochtones; en effet, les globules rouges sont rares et disséminés, rarement en petits amas, tandis que les granulocytes jeunes et adultes font presque défaut; de même, les mégacaryocytes sont rares et bien altérés dans leur constitution (fig. 4).

L'ensemble de cette observation peut se résumer ainsi : Un jeune homme de vingt-huit ans, à la suite d'un traumatisme violent sur la cage thoracique, se mit à souffrir de douleurs locales, dyspnée, toux, puis d'œdèmes plus accusés aux membres inférieurs et à la face. L'examen clinique révéla un épanchement pleural droit, une matité cardiaque plus étendue qu'à l'état normal et confirmée par la radioscopie; un foie et une rate moyennement hypertrophiés; plus tard apparurent quelques ganglions dans le creux de l'aisselle droite; cependant il n'y avait pas de fièvre, pas d'angine et pas d'hémorragies. L'examen morphologique du sang montra toutefois une hyperleucocytose progressive, avec élévation des lymphocytes et diminution des granulocytes, ensuite une anémie intense de caractère plastique. Toute thérapeutique entreprise parut inefficace et le malade succomba par cachexie en deux mois et demi d'hospitalisation. L'autopsie découvrit une tumeur rétrosternale, ayant des connexions avec le péricarde et pénétrant jusque dans le médiastin postérieur. Les ganglions médiastinaux, mésentériques et ceux du hile de la rate étaient hypertrophiés, sans cependant former des agglomérations tumorales. Le foie était très gros, tandis que la rate atteignait à peine le double de son poids. L'examen hisologique de la tumeur avait permis de constater une hyperplasie très étendue au niveau de la glande thymique et au dépens de ses cellules; cette hyperplasie se trouvait limitée seulement aux ganglions internes (médiastinaux et abdominaux), car les autres organes n'étaient presque pas infiltrés. La situation rétrosternale de la tumeur, ainsi que la structure histologique, où l'on avait mis en évidence la présence de corpuscules de Hassal, nous portaient à soutenir le diagnostic de l'organe. Par conséquent, tumeur primitive développée au dépens du thymus, en état de réviviscence, qui avait engendré, ultérieurement, un syndrome leucémique lymphoïde subaigu.

*
**

Les particularités cliniques de cette observation durant son évolution révèlent les difficultés que l'on peut éprouver à établir un diagnostic sans le contrôle histologique. Un violent trau-

matisme thoracique, suivi de troubles de compression, à évolution lente, éveille la possibilité d'un développement tumoral médiastinal. Ces tumeurs du médiastin peuvent être d'origine tuberculeuse, sarcomateuse, lymphogranulomateuse (Hodgkin), ou même leucémique. Les examens hématologiques répétés sont généralement d'une grande utilité au clinicien; même lorsqu'ils se montrent normaux on a à recourir à un splénogramme, à un adénogramme ou plutôt à un myélogramme, moyens d'investigation actuellement rentrés dans l'usage.

Cliniquement nous ne pouvions pas penser à un syndrome leucémique, en absence d'état infectieux, d'angine, d'adénopathie externe et d'hémorragie; les examens morphologiques répétés du sang, seulement, nous ont permis d'affirmer le syndrome leucémique, auquel s'ajoutait un syndrome anémique très sévère. Les leucémies lymphoïdes subaiguës ou chroniques sans adénopathies externes sont des éventualités cliniques très rares. Un des cas des plus typiques est celui publié par Ch. Aubertin (1) : Un malade de cinquante-six ans, présentant un syndrome hémorragique intense avec purpura, mais sans hypertrophie du foie, ni de la rate, ni des ganglions lymphatiques. La formule sanguine offrait l'image d'une leucémie lymphoïde chronique; la radiothérapie des épiphyses osseuses abaissa la proportion des leucocytes presque au taux normal; ainsi l'auteur pense à l'hyperplasie exclusivement de la moelle lymphoïde, et préfère lui donner le nom de « forme médullaire pure », tout au moins au point de vue clinique.

Ultérieurement, MM. Bensis et Gouttas (d'Athènes) (2) décrivirent deux autres cas analogues, où, de plus, le syndrome hémorragipare faisait défaut. La radiothérapie, pratiquée dans un des cas sur la rate et les ganglions lymphatiques (bien que non hypertrophiés), fit descendre très sensiblement la proportion des leucocytes. Il ne peut donc être question, disent-ils, d'une « forme médullaire » dans le sens de Ch. Aubertin, mais d'une maladie de système.

Ces considérations cliniques mises à part, notre observation

(1) Aubertin (Ch.) : « Un cas de leucémie lymphoïde chronique, sans augmentation de volume de la rate, ni des ganglions (forme médullaire pure ?). » (*Bull. Mém. Soc. méd. Hôp. Paris*, 1927, p. 89.)

(2) Bensis (W.) et Gouttas (A.) : « Deux cas de leucémie lymphoïde sans splénomégalie ni hypertrophie des ganglions lymphatiques. » (*Le Sang*, n° 1, 1930.)

anatomoclinique impose la discussion sur les deux problèmes suivants :

a) Tumeur médiastinale et leucémies;

b) Traumatisme et leucémies.

A. Tumeur médiastinale et leucémies. — Lorsqu'on dépouille les observations publiées jusqu'ici, relatives à ce sujet, on remarque la variabilité des termes accordés en rapport avec la lésion anatomique, ou bien avec la forme de la leucémie. En tout cas, les tumeurs médiastinales, accompagnées ou non de leucémies, ont pour point de départ soit des paquets ganglionnaires, soit la glande thymique. Dans le premier cas, nous rangerions quelques observations plus ou moins récentes : celle de Babonneix, Denoyelle et Poliet (1) concernant une jeune malade de dix-sept ans, qui présentait les signes d'une tumeur médiastinale, avec fièvre et purpura. Les coupes de la tumeur montraient un tissu lymphoïde et des cellules semblables à celles des centres germinatifs ganglionnaires; les autres organes étaient infiltrés, sauf le foie et la rate. On ne peut savoir l'état du sang, faute d'examen hématologique. Pas plus complète est l'observation de Minvielle et Colombiès (Toulouse) (2), qui a trait à un malade de quarante-trois ans avec une tumeur médiastinale, dont l'aspect microscopique était complexe : aspect lymphoïde auquel s'ajoutaient des cellules plasmatiques et des cellules monstrueuses, ainsi que des zones de nécrose sans bacille de Koch. Il n'y avait pas d'infiltration dans les organes et on ne connaît pas davantage l'état du sang.

Le cas de Boidin, Worms et Davoignau (3) est bien celui d'une tumeur médiastinale — probablement ganglionnaire — associée à une leucémie lymphatique et à une grosse infiltration des organes. Ces auteurs rangent leur cas comme intermédiaire entre hyperplasies et néoplasies.

D'autres auteurs, P.-E. Weil, Isch-Wall et Bertrand (4) considèrent comme tumeur mère le bloc médiastinal d'origine ganglionnaire accompagné d'une leucémie aiguë; le syndrome leu-

(1) Babonneix, Denoyelle et Poliet : « Lymphocytome du médiastin. » (*Bull. et Mém. Soc. méd. Hôp. Paris*, 1921.)

(2) Minvielle et Colombiès : « Lymphocytome atypique du médiastin. » (*Bull. et Mém. Soc. méd. Hôp. Paris*, 1923.)

(3) Boidin, Worms et Davoignau : « Lymphomatose typique subleucémique à évolution maligne. » (*Bull. et Mém. Soc. méd. Hôp. Paris*, 1928.)

(4) Weil (P.-E.), Isch-Wall et Bertrand : « Leucémie aiguë avec tumeur mère médiastinale. » (*Bull. et Mém. Soc. méd. Hôp. Paris*, 1930.)

cémique était atypique dans leur cas (absence d'hémorragies, fièvre, angine, adénopathies externes). De même l'observation de Laporte, Lyon et Darnaud (1), de date plus récente, a trait à une tumeur mère du médiastin simulant une péricardite; il n'y avait pas d'adénopathie externe et cependant l'examen du sang révélait une leucémie lymphoïde classique.

On voit donc que les tumeurs du médiastin d'origine ganglionnaire sont susceptibles bien des fois d'engendrer des leucémies lymphoïdes aiguës; ces leucémies revêtent un aspect clinique assez fruste et comportent un pronostic encore plus sévère, car la radiothérapie, opérante en apparence, précipite l'évolution de la maladie.

Les tumeurs du médiastin, accompagnées ou non de leucémies ayant comme point de départ la glande thymique, revêtent aussi des formes cliniques et anatomiques, qui se prêtent à de nombreuses discussions ; certes, cela s'explique, lorsqu'on juge du caractère de la cellule tumorale, qui entre en jeu sur des terrains cliniques différents. Comme dans les tumeurs médiastinales d'origine ganglionnaire, ici aussi, chaque auteur leur donne une dénomination qui lui paraît plus justiciable de la forme anatomoclinique. Les uns les appellent lymphadénomes d'origine thymique ; tel le cas de Gandy et Piédelièvre (2), où il s'agit d'un malade de quarante ans, qui offre un syndrome clinique de thrombose de la veine cave supérieure, occasionnée par une tumeur du médiastin antérieur : l'évolution est de douze jours, alors que l'équilibre morphologique du sang n'est pas troublé. Les coupes de la tumeur montraient un tissu homogène formé par des éléments lymphoïdes. Il n'y avait pas de corpuscules de Hassal, mais on ne doutait pas de l'origine thymique. Une observation cliniquement analogue est celle de Harvier (3) ; la cellule tumorale étant polymorphe et atypique, l'auteur préfère la dénomination de lymphosarcome du thymus; pas de corpuscule de Hassal.

Le même genre de tumeur est celui des cas anciens de

(1) Laporte, Lyon et Darnaud : « Leucémie lymphoïde à forme médiastinale, simulant une péricardite. » (*Soc. de Méd., Chir. et Pharm. de Toulouse,* 18 juin 1936.)

(2) Gandy et Piédelièvre: « Tumeur maligne primitive du médiastin antérieur. Lymphadénome d'origine thymique. (*Bull. et Mém. Soc. méd. Hôp. Paris,* 1920.)

(3) Harvier : « Lymphosarcome du thymus. » (*Bull. et Mém. Soc. méd. Hôp. Paris,* 1921.)

Palma (1) et de Rheinmann (2) ; ici il y a, de plus, un syndrome leucémique pur à évolution rapide et à cellules jeunes. Dans le cas de Ch. Laubry, G. Marchal et Mallet (3), il y a tumeur pseudo-kystique du médiastin, sarcomateuse (?) sans hyperleucocytose sanguine ; la radiothérapie déclancha ensuite un syndrome leucémique à évolution rapide et avec des cellules souches. Intermédiaire entre ces cas, se placerait l'observation de Chevallier, Blechmann, Lévy et M^me^ Montlaur (4), où il s'agit d'un enfant de sept ans et demi portant une tumeur rétrosternale confirmée à la radiologie, d'origine très probablement thymique ; si le nombre des leucocytes était normal, la formule leucocytaire montrait des éléments mononucléés nombreux et puis des cellules souches, dont une partie se trouvaient altérées.

D'autres auteurs préfèrent la dénomination de lymphocytome, ou bien de lymphocytémie, à certaines tumeurs d'origine thymique, accompagnées d'un syndrome leucémique. Ainsi l'observation de de Jong et Louet (5) : Jeune malade de dix-sept ans succombant à la suite d'un syndrome anémique grave avec hémorragies ; la formule sanguine caractérisait une leucémie aiguë à cellules non différenciées, tandis qu'à l'autopsie on trouvait une grosse tumeur dans le médiastin antérieur. L'histologie montrait une masse uniforme de lymphocytes, éléments qu'infiltraient également presque tous les autres organes. Pas de corpuscules de Hassal. Ces auteurs en font un cas intermédiaire des sarcomes et des leucémies. D'autres cas analogues ont été publiés, surtout en France, par Renault, Cathala et Plichet (6) (ici manque l'examen hématologique), par Lavergne, Abel et Debenedetti (de Nancy) (7), par Rocaz (8) (corpuscules de Hassal sur les coupes

(1) Palma : *Deutsche Med. Wochenschrift,* n° 35, 1892.

(2) Rheinmann : *Wiener Klinische Wochenschrift,* n° 39, 1899.

(3) Laubry (Ch.), Marchal (G.) et Mallet (L.) : « Tumeur médiastinale pseudo-kystique. Leucémie aiguë terminale. » (*Le Sang,* juillet 1832.)

(4) Chevallier (P.), Blechmann (G.), Lévy (P.) et Montlaur (M^me^) : « Leucose tumorale aiguë particulière. » (*Le Sang,* 1937.)

(5) De Jong et Louet : « La leuco-sarcomatose d'après un cas de leucémie aiguë avec volumineux lymphocytome atypique latent du médiastin. » (*Arch. des Mal. du Cœur,* 1924.)

(6) Renault, Cathala et Plichet : « Lymphocytome malin du médiastin antérieur chez un enfant de vingt mois. » (*Bull. et Mém. Soc. méd. Hôp. Paris,* 1924.)

(7) Lavergne, Abel et Debenedetti : « Tumeur du médiastin antérieur à type clinique de leucémie aiguë. » (*Bull. et Mém. Soc. méd. Hôp. Paris,* 1930.)

(8) Rocaz : « Lymphocytémie aiguë avec hypertrophie du thymus chez un enfant de quatre ans. » (*Revue des Mal. de l'Enfance,* 1902.)

histologiques), par Lefebvre et Cristaens (1) et par Huber, Cayl et Angelesco (2). Une observation analogue à la nôtre a été publiée par R. H. Major (3). Enfin, nous rappelons en dernier lieu deux observations : celle de Marchal, M^lle^ Brun et Grupper (4), intéressantes par le fait d'une hypertrophie du thymus, auquel s'ajouta une leucémie de type monocytaire: « Les coupes concernant le thymus révélaient une hyperplasie de la trame conjonctive et réticulée, avec transformation des cellules réticulaires en leucoblastes; amas importants de cellules lymphoïdes, zones congestives et aussi de nombreux corpuscules de Hassal. Donc hyperplasie lymphoïde et métaplasie leucoblastique. »

Puis l'observation de Courtois-Suffit, de Jong et Liège (5), dans laquelle il y a tumeur thymique sans métastase chez un vieillard. Les cellules prolifératives étaient des lymphocytes d'une part, des cellules épithéliales d'autre part.

Du dépouillement de ces observations, on pourrait relever quelques faits bien nets : la glande thymique est susceptible pendant son évolution, ou pendant son involution, pour des raisons inconnues, à des hyperplasies tumorales pouvant intéresser le système de tous ses éléments histologiques. Les tumeurs thymiques, toujours malignes, et d'évolution généralement aiguë, plus rarement subaiguës, se montrent localisées à la glande elle-même, ou bien s'accompagnent d'un syndrome leucémique, avec ou sans hyperplasie de système dans les autres viscères.

Si l'hyperplasie de la glande porte histologiquement sur le thymocyte, ou bien sur la cellule conjonctive de la trame, ou encore sur la cellule épithélio-réticulée, le reflet sanguin se traduit — lorsqu'il y a leucémie — sous la forme d'une leucémie aiguë ou subaiguë, à cellule non différenciée, cellule lymphoïde ou bien à cellule monocytaire.

Nous avons remarqué dans la plupart des cas l'absence des corpuscules de Hassal sur les coupes histologiques et, à ce sujet, il y a eu des controverses sur l'origine de la cellule tumorale (6) ;

(1) Lefebvre et Cristaens : « Hypertrophie du thymus. » (*Soc. de Méd. du Nord*, 1936.)

(2) Huber, Cayl et Angelesco : « Leucémie aiguë avec hypertrophie du thymus chez un enfant de huit ans. » (*Soc. de Pédiatrie*, 1933.)

(3) Major (R. H.) : *John's Hopkins Hospital Bull.*, septembre 1918.

(4) Marchal (G.), Brun (M^lle^) et Grupper : « Hypertrophie du thymus. Leucémie monocytaire aiguë. » (*Bull. et Mém. Soc. méd. Hôp. Paris*, 1934.)

(5) Courtois-Suffit, de Jong et Liège : « Un cas d'épithélioma typique du thymus chez un vieillard. » (*Bull. Assoc. fr. du Cancer*, t. 15, 1926, p. 333.)

(6) Delessert (M.) : *Thèse de Genève*, 1919.

cependant il ne paraîtrait pas difficile d'admettre la disparition de ces corpuscules, lorsqu'il y a hyperplasie de l'organe, quand on sait que leur présence, même à l'état normal, devient plus rare parallèlement à l'involution de l'organe. Sultan (1), ayant étudié minutieusement 4 cas de tumeurs thymiques, ne les a jamais rencontrés. Par ailleurs, M. Letulle (2) avait établi depuis longtemps que toute tumeur maligne non ganglionnaire, développée primitivement en arrière de la moitié supérieure du sternum, prend naissance au dépens du thymus, ou de ses débris atrophiques.

Une autre remarque qu'on pourrait détacher des observations mentionnées, c'est l'aspect différent d'un cas à l'autre de l'infiltration organique. Les tumeurs thymiques, accompagnées ou non d'un état leucémique, ne se comportent pas comme les leucémies typiques. Ainsi l'on a pu voir des tumeurs thymiques sans état leucémique, ni infiltration organique (Harvier, Gandy et Piédelièvre). De là, toute une transition a été possible jusqu'à l'état de tumeur thymique avec infiltration massive des organes et du sang. La cellule tumorale chargée d'un tel potentiel de généralisation a posé le problème, si difficile à résoudre, de l'origine néoplasique des leucémies. Jolly avait énoncé que, pour relier sans interruption les leucémies aux sarcomatoses, il faudrait trouver des maladies dans lesquelles la lésion des tissus hématopoïétiques fût semblable à celle des sarcomes véritables par sa marche envahissante, et qui montrerait dans le sang le passage des éléments néoformés, comme dans la leucémie ; ces types intermédiaires sont encore mal connus. Peut-être c'est pour répondre à cette affirmation théorique que Boidin, Worms et Davoignau, et de Jong et Louet, considèrent leurs cas comme intermédiaires entre néoplasie et leucémie.

Tant qu'on ne connaîtra pas l'agent étiologique des leucémies, il sera difficile de ranger ces maladies dans un cadre anatomopathologique établi. Jusque-là, elles conserveront le caractère des hyperplasies, en dépit même de certaines formes « intermédiaires » susceptibles de les rapprocher des néoplasies. Vu aussi les formes et les aspects différents que peut revêtir un état leucémique, il faut admettre qu'il n'y a pas à proprement parler de maladie du sang, mais qu'il existe seulement des réactions diverses des organes hématopoïétiques (P.-E. Weil et A. Clerc).

(1) Cité par Harvier (M.) : *Loco cit.*
(2) Letulle (M.) : *Arch. générales de Médecine*, t. II, 1890.

B. Traumatisme et leucémies. — Dans l'histoire de la maladie de notre cas, nous avons relevé, comme fait essentiel, le traumatisme violent subi par le malade et, à l'autopsie, une consolidation osseuse de la troisième côte droite près du sternum. Il est juste qu'avant le traumatisme, nous ne connaissions pas l'état morphologique du sang ; mais nous savons que c'est exactement à partir de la date du traumatisme que le malade se mit à souffrir. Le premier examen du sang pratiqué à la clinique était postérieur au traumatisme à peu près de trois mois ; il montrait, le 2 janvier 1938, un état subleucémique, et c'est ainsi qu'il évolua pendant un mois et demi, lorsque s'installa le syndrome hématologique pur de leucémie lymphoïde.

Les leucémies traumatiques existent-elles ? On se rend facilement compte de la difficulté à répondre à ce sujet, vu la rareté des cas et, par ailleurs, l'impossibilité d'obtenir des données hématologiques immédiatement avant le traumatisme. Le critérium de jugement ne repose aujourd'hui que sur des interprétations cliniques et expérimentales. Lorsqu'il y a fracture osseuse, la lésion de la moelle est certaine (Ogata, Gussenbauer) ; de même, lorsqu'il y a traumatisme de la rate, on voit apparaître des modifications de l'ordre de l'hyperplasie lymphadénoïde (Sabrazès, Bideau, Mauzé et Gineste).

En Allemagne, ce problème a pris un grand développement, aussi bien dans le domaine scientifique que dans celui de la pratique médico-légale. En France, P.-E. Weil et J. Bousser (1), dans un très important mémoire, s'appuyant sur un nombre de 38 observations, dont 4 personnelles, schématisent ainsi le problème : a) Les leucémies révélées par le traumatisme ; b) Les leucémies aggravées par le traumatisme ; c) Les leucémies après un traumatisme. C'est ce dernier chapitre qui nous préocupe ; la leucémie d'origine traumatique doit remplir plusieurs conditions: *a)* jusqu'à l'accident, le sujet devait être en bonne santé apparente ; *b)* le traumatisme doit toujours intéresser la moelle osseuse, ou la rate (fracture ou contusion, qui impose l'arrêt du travail) ; *c)* on considère, pour les leucémies myéloïdes post-traumatiques, une période de quinze jours à deux ans, entre le traumatisme et les premiers symptômes leucémiques.

P.-E. Weil et ses collaborateurs affirment que ce genre de leucémies ne seraient que myéloïdes, car le traumatisme sur les gan-

(1) Weil (P.-E.) et Bousser (J.) : « Leucémies et traumatisme. » (*Annales de Méd.*, t. 40, 1936, p. 220.)

glions lymphatiques étant exceptionnel, on n'observerait jamais de leucémie lymphoïde. Voici cependant que Sabrazès, Bideau et Gineste (1), tout récemment viennent de publier deux observations de leucémie lymphoïde, où le traumatisme ou l'irritation chronique de la rate et des ganglions lymphatiques leur semble probable. Quant à notre observation, peut-on faire un rapport de cause à effet, en se basant seulement sur les données cliniques ? Il est difficile de répondre à l'abri de toute critique. N'oublions pas que dans notre cas le traumatisme violent avec fracture de côte s'est excercé dans la région pré et para-sternale, c'est-à-dire sur une glande thymique, probablement prédisposée à une prolifération thymocytique. A l'heure actuelle, ni les faits cliniques ni les données expérimentales ne permettent donc de résoudre ce délicat problème ; en effet, peut-on incriminer le traumatisme comme facteur étiologique des leucémies, quand nous ne connaissons pas l'agent spécifique de ces maladies ?

EXPLICATION DES PLANCHES

L'explication des planches se trouve dans le texte, au chapitre « Histologie ».

---

(1) Sabrazès (J.), Bideau (J.) et Gineste (G.) : « Traumatisme, irritation chronique et leucémie. » (*Gaz. hebd. des Sc. méd. de Bordeaux*, nos 25 et 26, 1938.)

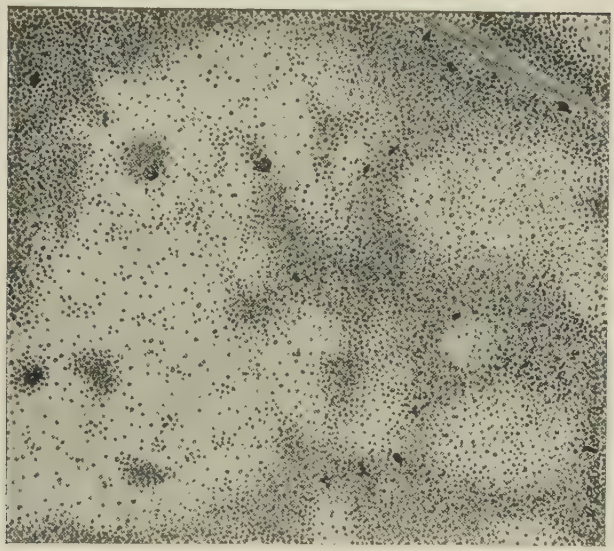


FIG. 1.

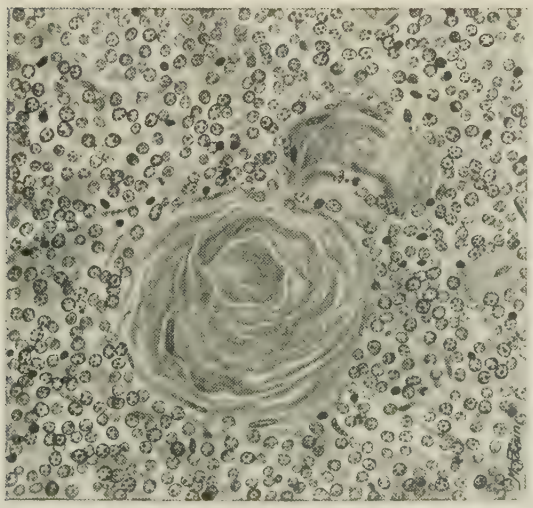


FIG. 2.

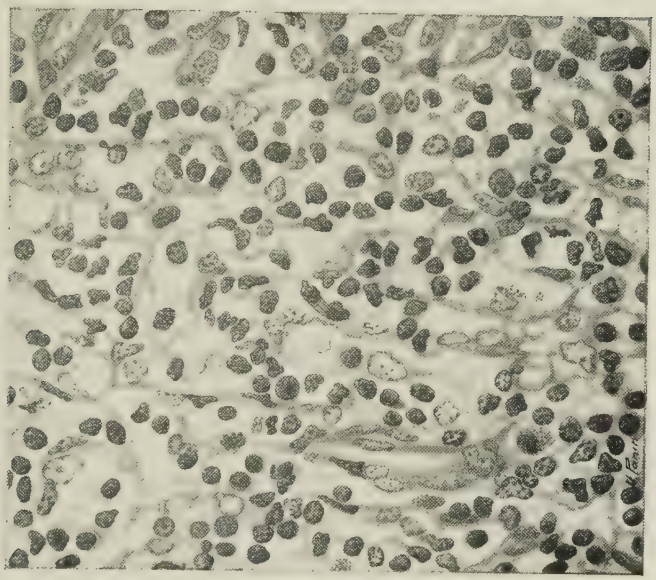


FIG. 3.

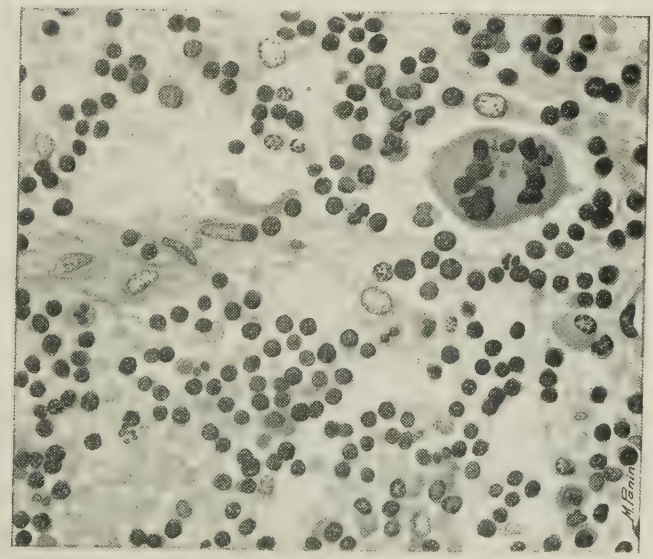


FIG. 4.

ÉTUDE CYTOLOGIQUE DE L'EXSUDAT PÉRITONÉAL PRODUIT CHEZ LE SINGE PAR L'INOCULATION INTRAPÉRITONÉALE DU VIRUS DE LA LYMPHOGRANULOMATOSE INGUINALE BÉNIGNE (MALADIE DE NICOLAS-FAVRE)

par

ION MESROBEANU

(Travail de l'Institut « Cantacuzino »)

Les premiers auteurs qui démontrent l'existence d'une péritonite spécifique chez les singes inoculés avec le virus de la maladie de Nicolas-Favre sont les Suédois Hellerstrom et Wassen (1). En inoculant dans le cerveau et le péritoine d'un singe une émulsion cérébrale virulente, ces auteurs observent vers le septième jour, le développement d'une méningo-encéphalite chez cet animal, en même temps que l'installation d'une distension de l'abdomen. L'animal est sacrifié vers le quatorzième jour après l'inoculation. A l'autopsie, on trouve dans la cavité péritonéale 50 centimètres cubes d'un liquide trouble, gris jaunâtre, très riche en éléments cytologiques (leucocytes divers, histiocytes, etc.). Les cultures à partir de ces exsudats sont toujours stériles. Ce liquide péritonéal donne des réactions de Frei positives chez les malades de lymphogranulomatose bénigne. Il est en même temps virulent; inoculé à un autre singe neuf, il reproduit la maladie.

C. Ionesco-Mihaiesti et ses collaborateurs (2) inoculent aux singes, par voie péritonéale, du matériel virulent (cerveau, foie, rate, épiploon, ganglions, etc.), émulsionné dans de l'eau phy-

(1) Hellerstrom (S.) et Wassen (E.) : *Zschrft. f. Immforsch.*, 1931, 73, 110.

(2) Ionesco-Mihaiesti (C.), Tupa (A.), Wisner (B.), Mesrobeanu (I.) et Badenski (G). : *Bull. de l'Acad. de Médecine*, 1933, CX, 3.

siologique ou filtré par bougies Chamberland L_1 ou L_2. Ils obtiennent une péritonite caractéristique dont l'évolution, plus ou moins grave, est en rapport avec la virulence du virus inoculé, avec la quantité introduite et avec la réceptivité individuelle de chaque animal.

Pour apprécier l'existence et l'intensité de cette péritonite caractéristique pendant l'évolution de la maladie clinique, ils se sont servis d'une méthode très simple, la ponction de la cavité péritonéale à l'aide d'une pipette capillaire. On pratique la ponction péritonéale à divers intervalles de temps après l'inoculation du virus. Une fois l'animal mort ou si on le sacrifie, on peut juger du degré des lésions d'après l'intensité de la réaction présentée par la cavité péritonéale en général, et d'après l'existence d'un exsudat péritonéal en spécial. L'exsudat peut exister en plus ou moins grande quantité ; la richesse en cellules peut être plus ou moins grande également, d'où le degré du trouble présenté par ce liquide. Il faut ajouter que quelquefois, chez beaucoup de singes inoculés, on ne trouve pas d'exsudat péritonéal, la péritonite pouvant se présenter sous un aspect sec, adhésif seulement.

La cytologie de ce liquide présentant donc un intérêt diagnostique, il nous a semblé intéressant de l'analyser de plus près. La méthode employée consistait dans des ponctions péritonéales faites à divers intervalles de temps après l'inoculation de virus. On pratique la ponction péritonéale chez le singe à l'aide d'une pipette Pasteur effilée qu'on introduit dans la cavité péritonéale à travers la paroi abdominale. Par capillarité, ou en aspirant légèrement, quelques gouttes de liquide arrivent dans la pipette. Les quelques gouttes de liquide extraites sont étalées sur lame et colorées par la méthode de Pappenheim. De même, on procède avec le liquide péritonéal qu'on trouve à l'autopsie des animaux morts ou sacrifiés. Les colorations vitales donnent également des aspects très intéressants à observer, tout comme l'observation ultramicroscopique. Les tableaux cytologiques qu'on obtient par ponction permettent à un œil un peu exercé d'émettre un diagnostic sûr de cette forme exsudative de la maladie expérimentale.

Nous avons suivi l'étude cellulaire du liquide péritonéal chez *17 singes* appartenant aux espèces *Macaccus Cynomolgus*, *Macaccus Rhesus*, *Cercopithecus callitriche*, *Papion Hamadrias* et *Papion babouin*, inoculés par voie péritonéale seule ou associée à la voie cérébrale. En dehors de ces singes, dont l'évolution de

l'exsudat péritonéal a été suivie de près, nous avons examiné en plus la réaction péritonéale chez plus de 200 singes, inoculés avec le virus lymphogranulomateux.

Chez tous ces singes, le liquide péritonéal ne contenait pas de germes cultivables. Tous les ensemencements faits à partir soit du liquide, soit des divers viscères abdominaux restaient stériles.

On a pratiqué des réactions de Frei avec un antigène constitué par le liquide péritonéal chauffé à 60° pendant une heure, chez des individus présentant la maladie de Nicolas-Favre. Les réactions étaient faiblement positives. Il faut dire que la réaction de Frei, pratiquée avec le liquide péritonéal comme antigène, se révélait toujours moins forte qu'avec un antigène formé par une émulsion d'autres organes du péritoine: foie, épiploon, rate, ganglions, etc.

*
**

Les formes cellulaires qu'on rencontre à l'examen microscopique sont d'une diversité morphologique étonnante. Dès le début, on peut dire que les cellules qui prédominent sont les monocytes et les lymphocytes. En dehors de ces formes de cellules de réaction, on rencontre en grand nombre des leucocytes polynucléaires, des cellules provenant des tissus de défense, des cellules souches génératrices, diverses formes pathologiques de cellules, des hématies enfin.

Nous commencerons notre étude par l'analyse des lymphocytes et des formes qui s'y rattachent. On trouve dans nos exsudats un nombre considérable de lymphocytes présentant toutes les formes que les divers auteurs considèrent comme rentrant dans cette catégorie de cellules. On voit le petit lymphocyte à noyau rond central et au protoplasme bazophile, *le lymphocyte typique de Pappenheim* (fig. 1, 7 et 8); le lymphocyte à noyau ovale excentrique ou en fer à cheval et au protoplasme peu basophile, *le lymphocyte leucocytoïde de Pappenheim* (fig. 4). Un nombre important parmi les lymphocytes ont des granulations azurophiles dans leur protoplasme, éparses ou en amas. On rencontre également des formes jeunes de lymphocytes, des prolymphocytes, d'après l'appellation de Ferrata (fig. 2, 30 et 31), et beaucoup de cellules souches génératrices des lymphocytes, *les lymphoblastes* ; enfin, un grand nombre de lymphocytes d'aspect pathologique se trouvent dans l'exsudat. Les formes pathologiques ont des noyaux qui vont des simples encoches jusqu'aux aspects présentés par les cellules de Rieder.

Un certain nombre de lymphocytes présentent des noyaux pycnotiques (fig. 23). En général, beaucoup de lymphocytes trouvés dans l'exsudat péritonéal ont des formes pathologiques. A cet aspect morphologique pathologique s'ajoute encore le fait anormal susmentionné, la présence des formes jeunes et des cellules génératrices des lymphocytes, c'est-à-dire les prolymphocytes et les lymphoblastes. Ces derniers, avec leur protoplasme plutôt fortement basophile sans granulations, avec le noyau caractéristique contenant un à deux nucléoles et munis d'un riche réseau chromatinien, donnent au tableau exsudatif une note particulière (fig. 5, 27, 28 et 29). On trouve un certain nombre de lymphoblastes en division cellulaire (fig. 5, 24 et 25). D'autres lymphoblastes montrent une tendance plasmocytaire très marquée, tendance très caractéristique pour notre exsudat (fig. 32, 34 et 35). Parmi les lymphoblastes en évolution plasmocytaire, il y a même des figures de caryocinèse (fig. 26). Enfin les lymphoblastes montrent des noyaux peu encochés (fig. 36) ou fortement encochés, de telle manière qu'ils prennent un aspect riederiforme (fig. 33). Aux lymphoblastes font suite les prolymphocytes d'une taille un peu plus grande que celle des lymphocytes adultes, avec une bande protoplasmique basophile, plus mince que celle des lymphoblastes, qui entoure un noyau arrondi ou très légèrement encoché, au réseau chromatinien assez épais.

Les faits pathologiques que nous avons cités à propos des lymphocytes, la lobulation et le bourgeonnement du noyau, qui réussissent à donner à cette cellule un aspect riederiforme, la présence de formes très jeunes et de cellules souches dans l'exsudat, la fréquence des figures de division indirecte trouvées, la tendance plasmocytaire prise par tous ces éléments, tous ces faits, ajoutés au nombre impressionnant de lymphocytes en rapport aux autres types cellulaires, forment un ensemble qui traduit l'importance du rôle joué par le système lymphatique dans l'infection lymphogranulomateuse. Sur la signification du rôle des lymphocytes dans cette infection, à la lumière des nouvelles recherches expérimentales, nous reviendrons quand nous parlerons des éléments phagocytaires rencontrés dans notre liquide. Pour le moment, il faut souligner l'absence de la propriété phagocytaire chez le lymphocyte, car nous n'avons pas observé de lymphocytes en voie de phagocyter, dans nos préparations.

L'autre groupe de cellules qui prédomine dans l'exsudat lymphogranulomateux expérimental du singe, à côté des cellules de la série lymphoïde, c'est le groupe des monocytes. Ils pré-

sentent une variété extraordinaire de taille et de forme. On voit des monocytes jeunes, à noyau rond ou ovalaire, mais, le plus souvent, avec des bourgeonnements (le contour du noyau est irrégulier en général). Le dessin du réseau chromatinien est très fin; on n'observe que rarement des nucléoles. Leur protoplasme est d'un bleu un peu plus foncé que celui (bleu pâle) des monocytes adultes. On trouve des granulations azurophiles dans ce protoplasme, mais on ne peut pas dire qu'elles sont nombreuses (fig. 32 à 42).

De ces monocytes jeunes jusqu'aux monocytes adultes, toutes les formes peuvent être rencontrées. Les monocytes adultes présentent un noyau d'une forme extrêmement variable. On peut dire qu'en général, le noyau des monocytes adultes a un aspect lobé. Il est très encoché ; quelquefois deux ou trois encoches, réalisant ainsi des formes très diverses. Le noyau est de grandes dimensions et un peu excentrique. Le protoplasme est d'un bleu grisâtre pâle, avec granulations toujours peu nombreuses (fig. 3, 5, 43 à 46).

Nous retrouvons chez les monocytes la tendance plasmocytaire que nous avons signalée à propos des lymphocytes. Il faut dire qu'elle est plus réduite que chez ces derniers éléments. Mais d'autres formes pathologiques traduisent l'atteinte des monocytes, comme la vacuolisation prononcée qu'on rencontre chez eux, l'absence relative de granulations et les formes de dégénérescence à noyau ramassé. Il faut ajouter qu'on rencontre également beaucoup de formes marquant la transition entre les lymphocytes et les monocytes.

En dehors de cela, le nombre des monocytes phagocytaires est important. A côté des histiocytes d'origine endothéliale, les monocytes forment l'élément phagocytaire par excellence (fig. 47 à 49).

Enfin on trouve des formes jeunes de monocytes, ce que les auteurs appellent monoblastes, mais qui sont, le plus souvent, difficiles à distinguer des cellules souches des autres éléments.

Un autre type de cellules souvent rencontré est formé par les plasmocytes. On les rencontre sous la forme classiquement décrite de cellules à contour ovalaire ou piriforme et très régulier : noyau en rayon de roue ou présentant l'image d'un damier irrégulier à cases claires et sombres, protoplasme fortement coloré en bleu intense mauve, avec zone moins intensément colorée dans le voisinage du noyau.

Mais ce qui est plus intéressant encore, ce sont les très nombreuses formes de transition entre les lymphocytes ou les mono-

cytes et les plasmocytes. Le nombre des lymphocytes surtout, à tendance plasmocytaire, est impressionnant. La tendance plasmocytaire est très marquée dans cet exsudat et elle se rencontre tant pour les éléments adultes que pour les éléments très jeunes de ces deux catégories cellulaires ; les éléments souches, lymphoblastes, prolymphocytes ou monoblastes contribuent également à cette tendance plasmocytaire. Tous les stades de transition sont présents, une grande richesse de formes plasmocytaires apparaît dans notre liquide, lui donnant même un cachet particulier.

Il faut rapprocher la présence en grand nombre des plasmocytes, comme la tendance plasmocytaire trouvée dans le liquide péritonéal du singe infecté avec le virus lymphogranulomateux, de la fréquence du nombre des plasmocytes qu'on trouve dans les ganglions extirpés de malades de Nicolas-Favre ou dans certaines lésions expérimentales du virus lymphogranulomateux. Le facteur « plasmocyte », élément que presque tous les auteurs s'accordent à faire dériver du lymphocyte (et la tendance plasmocytaire de nos éléments confirme cette origine), devient un élément de diagnostic histo-pathologique dans cette maladie. On sait qu'on trouve un nombre accru de plasmocytes dans le sang des malades de scarlatine, de rubéole ou de coqueluche, maladies dans lesquelles le système lymphatique est plus ou moins profondément atteint. Voilà donc encore une preuve, tirée de cette étude cytologique, de l'atteinte de ce système lymphatique dans la lymphogranulomatose bénigne.

Les autres leucocytes fréquemment présents sont les polynucléaires, neutrophiles le plus souvent, éosinophiles ou basophiles (mastzellen). Plus rarement, on rencontre des myélocytes.

Les histiocytes prennent part également à cette réaction tellement intense et si caractéristique pour la maladie de Nicolas-Favre expérimentale. Ce type de cellules, provenant des tissus et spécialement de l'épiploon dans notre cas, joue un grand rôle dans la phagocytose d'autres éléments, d'autres cellules plus petites. Avec les monocytes, les histiocytes présentent de nombreuses figures de phagocytose. Ils phagocytent toutes sortes de débris et surtout des cellules d'un autre type, plus spécialement des lymphocytes. On voit de nombreuses figures de phagocytose des lymphocytes par les monocytes ou, surtout, par les histiocytes (fig. 47, 51, 54 et 55). Il ressort de l'observation de ces faits que le lymphocyte se comporte comme un élément étranger ou nuisible qui doit être éloigné. Ce fait est à rapprocher des récents

travaux de Joffey et Sullivan (1) qui, basés sur de très belles expériences, considèrent le lymphocyte comme un porteur de germes pour le virus vaccinal, comme la cellule propagatrice de ce virus dans l'organisme. Grâce au fait qu'il est véhiculé par le lymphocyte, le virus vaccinal, d'après ces auteurs, n'est pas atteint par les éléments de défense de l'organisme, humeurs ou cellules. Joffey et Sullivan regardent même les foyers d'infiltration lymphocytaire, phénomène si souvent rencontré dans la pathologie des ultra-virus, non pas comme une réaction tissulaire en face du virus, mais comme un effet de l'infection virale qui aide à la dissémination de l'agent pathogène. L'infiltration lymphocytaire témoignerait de l'introduction du virus dans la région où elle est rencontrée. Dans notre cas, la phagocytose du lymphocyte, interprétée d'après ces données récentes, représenterait la destruction du virus lui-même accolé à la cellule lymphatique.

Avec les hématies, le tableau cytologique présenté par notre exsudat est complet. Comme on le voit, il est d'une riche variabilité de formes qui explique l'intérêt qu'il peut soulever.

*
**

En dehors de l'étude cytologique, simplement descriptive, de notre exsudat, nous avons suivi également le pourcentage des différentes cellules qui entrent dans sa composition, afin de nous rendre compte de l'évolution que subissent les divers éléments rencontrés. Ces pourcentages, faits comme des formules leucocytaires, étaient poursuivis dans les frottis du liquide extrait par ponctions péritonéales à des intervalles de temps de quelques jours après l'injection du virus. On a fait également le pourcentage dans le liquide trouvé à l'autopsie des singes inoculés qui étaient sacrifiés ou morts.

Le premier fait qui se dégage du pourcentage cellulaire est que le tableau le plus typique se rencontre entre le sixième-huitième jour et le quinzième jour de l'évolution de la maladie expérimentale après l'injection du virus. La réaction à ce moment est tout à fait caractéristique, et elle est exprimée par un pourcentage de toutes les catégories de lymphocytes variant entre

(1) Joffey (J.-M.) et Sullivan (E.-R.) : The lymphatic pathway from the nose and pharinx. The dissemination of nasally instilled vaccinia virus. » (*J. Exp. Med.*, 1939, 69, 133.)

41 % et 70 %, tandis que les monocytes représentent 13 % à 40 % du nombre total des cellules.

En général, dans les 2-5 premiers jours après l'infection, le nombre des polynucléaires est de 15 % à 20 % pour diminuer ensuite jusqu'à 10 %, approximativement, au moment où la réaction lymphomonocytaire est au niveau susmentionné. Par exemple, chez le *Macaccus Cynomolgus* 155, on trouve 17 %, 9 % et 4 %, après les 2, 3, 15 premiers jours, respectivement, qui suivent l'infection ; chez le *Macaccus Rhesus* 167 : 19 % après 4 jours, et 7 % après 7 jours.

Chez les singes qui survivent plus longtemps après l'infection, le nombre des lymphocytes devient énorme. Chez le Cercopithèque callitriche 151, le pourcentage lymphocytaire varie de la manière suivante : 68 % après 12 jours; 77 % après 15 jours; 80,5 % après 19 jours ; 78 % après 24 jours, et 85,5 % après 32 jours d'évolution de la maladie. Chez le même animal, le nombre des monocytes, qui est de 22 % après 12 jours, diminue à 8,5 % après 32 jours. Le pourcentage des polynucléaires se maintient autour du chiffre de 10 % pendant tout ce laps de temps (12-32 jours). Chez un autre Cercopithèque (f. n.), le nombre des lymphocytes est de 55 % après 19 jours, pour atteindre 66 % après 26 jours. Les monocytes diminuent de 27 % à 17 %, et les polynucléaires se maintiennent à 10 % pendant la même période.

Les schémas observés chez ces deux Cercopithèques représentent le tableau moyen des pourcentages rencontrés pendant l'évoluton de la réaction cellulaire péritonéale dans notre cas.

En résumé, le virus de la maladie de Nicolas et Favre, inoculé par voie péritonéale chez le singe, peut provoquer l'apparition d'un exsudat péritonéal très caractéristique. Dans cet exsudat, la majorité des formes cellulaires est représentée par les mononucléaires : lymphocytes et monocytes. L'extrême richesse des formes, la présence des éléments souches de ces mononucléaires, les aspects atypiques qu'elles présentent, donnent un cachet particulier au tableau cytologique de ce liquide. La tendance plasmocytaire est très marquée.

Du point de vue nombre, celui des monocytes reste à un niveau à peu près constant, celui des lymphocytes augmente, tandis que le nombre des polynucléaires diminue dès les premiers jours de la maladie.

EXPLICATION DES PLANCHES

Planche I.

Fig. 1. — Amas de lymphocytes à noyaux ronds ou ovalaires. Au centre, deux lymphocytes présentent l'aspect d'une cellule riederiforme.

Fig. 2. — Au centre, une cellule endothéliale avec une vacuole digestive et des restes de débris cellulaires phagocytés dans son protoplasme. En haut, à droite, un lymphocyte; à gauche, un monocyte au noyau en fer à cheval. Au centre et à gauche, encore deux cellules endothéliales. En bas, à droite, un prolymphocyte.

Planche II.

Fig. 3. — Amas de lymphocytes et de monocytes. Les lymphocytes ont des noyaux encochés; trois d'entre eux présentent un aspect riederiforme. Les monocytes ont des noyaux en fer à cheval. En bas, à gauche, un polynucléaire.

Fig. 4. — En haut et au centre, lymphocyte à noyau fortement encoché, prenant un aspect trilobé riederiforme. En bas, six lymphocytes en voie de transformation plasmocytaire, au noyau excentrique en rayons de roue et au protoplasma fortement basophile. Les autres éléments sont des lymphocytes à noyaux, ovalaire, réniforme et encoché (lymphocytes typiques et leucocytoïdes de Pappenheim). Une hématie au milieu.

Planche III.

Fig. 5. — En haut et vers la droite, un lymphoblaste en caryocinèse; vers la gauche, un monocyte à noyau bilobé. Au milieu, une grosse cellule histiocytaire, d'origine endothéliale. A ses deux côtés, des monocytes à noyaux encochés. En bas, un lymphoblaste au protoplasma fortement basophile et un lymphocyte.

Planche IV.

Fig. 6. — Petit lymphocyte à noyau rond; mince lame de protoplasma.

Fig. 7. — Lymphocyte à noyau réniforme; granulations protoplasmiques.

Fig. 8. — Lymphocyte à noyau réniforme; pas de granulations protoplasmiques.

Fig. 9. — Lymphocyte à noyau encoché.

Fig. 10. — Lymphocyte à noyau réniforme et au riche protoplasma basophile sans granulations, stade de début de transformation plasmocytaire.

Fig. 11. — Lymphocyte à noyau réniforme et au riche protoplasma plein de grosses granulations.

Fig. 12 et 13. — Lymphocytes à noyaux réniformes légèrement encochés, au contour irrégulier du protoplasma; granulations protoplasmiques.

Fig. 14. — Lymphocyte d'aspect riederiforme.

Fig. 15 à 20. — Divers stades de transformation plasmocytaire des lymphocytes.

Planche V.

Fig. 21. — Stade de transformation plasmocytaire d'un lymphocyte *(suite)*.

Fig. 22. — Grand lymphocyte à noyau réniforme; gros amas de granulations dans le protoplasma.

Fig. 23. — Lymphocyte à noyau pycnotique.

Fig. 24 à 26. — Cellules souches, lymphoblastes en caryocinèse.

Fig. 27 à 29. — Lymphoblastes.

Fig. 30 à 31. — Prolymphocytes.

Fig. 32. — Lymphoblaste à tendance plasmocytaire.

Fig. 33. — Lymphoblaste à noyau d'aspect riederiforme.

Planche VI.

Fig. 34 à 36. — Lymphoblastes.

Fig. 37 et 38. — Polynucléaire basophile et myélocyte basophile.

Fig. 39. — Jeune monocyte.

Fig. 40 à 46. — Diverses formes de monocytes rencontrés dans le liquide péritonéal.

Planche VII.

Fig. 47 à 49. — Diverses figures de monocytes phagocytaires. Le monocyte de gauche phagocyte un lymphocyte.

Fig. 50 à 55. — Histiocytes d'origine endothéliale phagocytant. Dans la figure 51, on voit une vacuole digestive de la taille d'un lymphocyte comme celui accolé au côté de l'histiocyte.

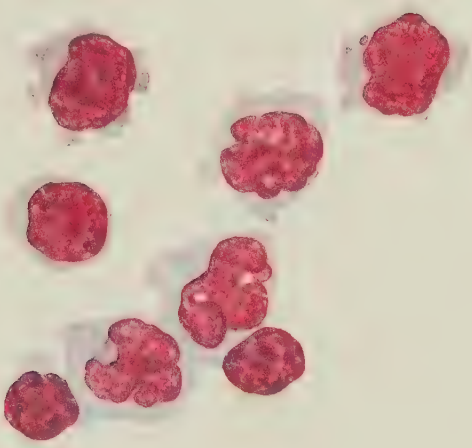


Fig. 1

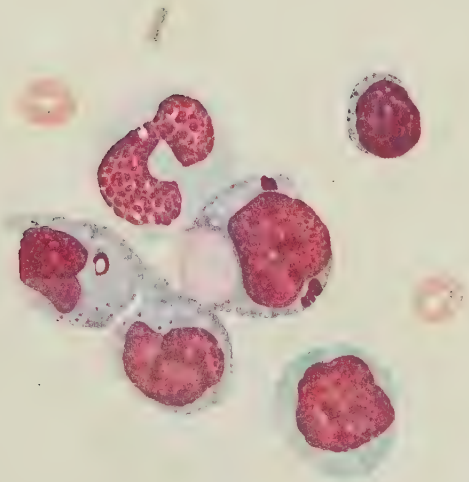


Fig. 2

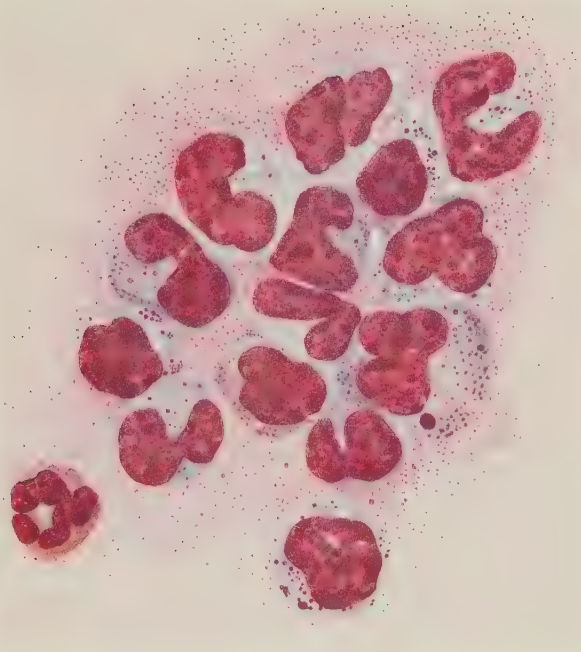


Fig. 3

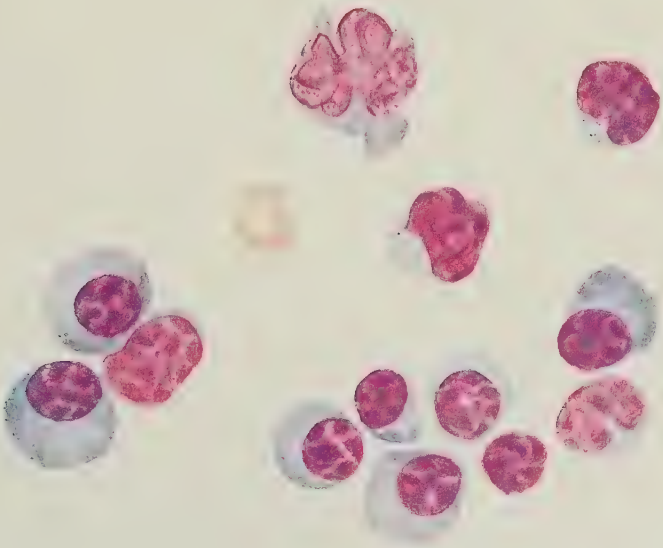


Fig. 4

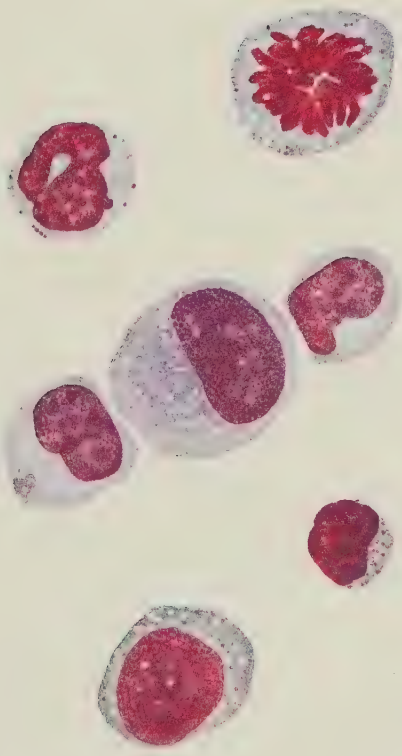
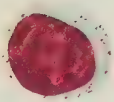
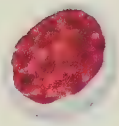


Fig. 5

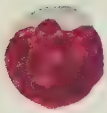
Fig. 6



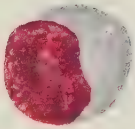
7



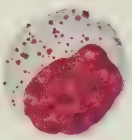
8



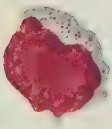
9



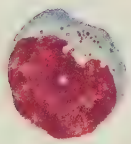
10



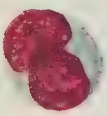
11



12



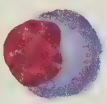
13



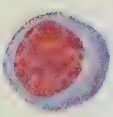
14

15

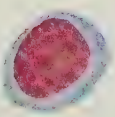
16



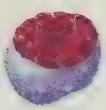
17



18

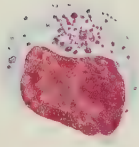


19



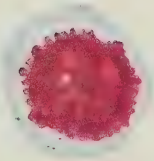
20

Fig. 21

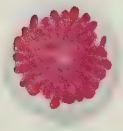


22

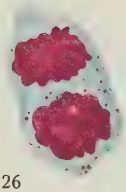
23



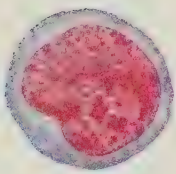
24



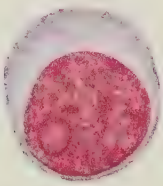
25



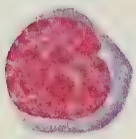
26



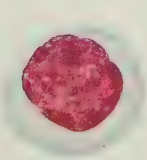
27



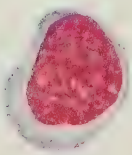
28



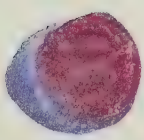
29



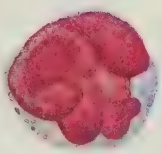
30



31

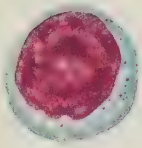


32

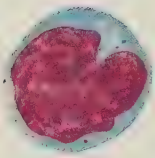


33

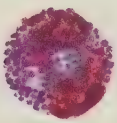
Fig. 34



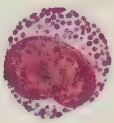
35



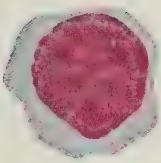
36



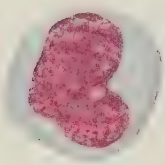
37



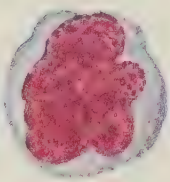
38



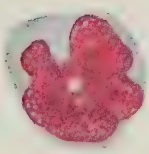
39



40



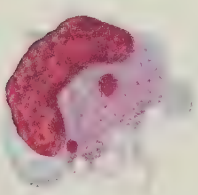
41



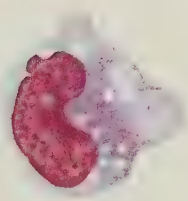
42

43

44



45



46

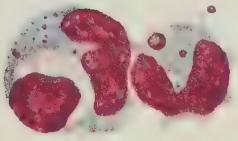
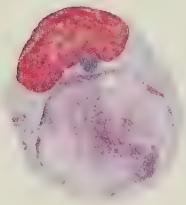
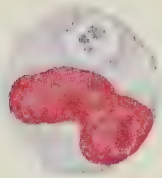


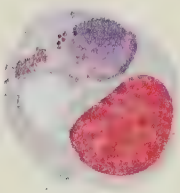
Fig. 47



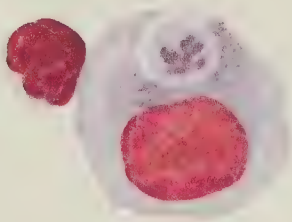
48



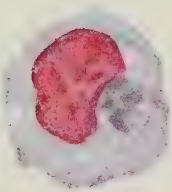
49



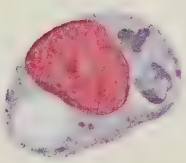
50



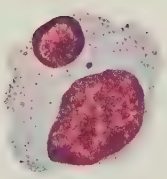
51



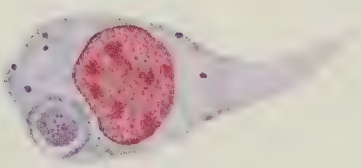
52



53



54



55

ÉTUDE SUR LES LIPIDES BIRÉFRINGENTS DE L'OVAIRE ET DU TESTICULE CHEZ QUELQUES ANIMAUX

par

State DRAGANESCO et D. CASANGIU

Dans un travail antérieur, l'un de nous, avec M. I. Tucolesco, s'est occupé des lipides figurés biréfringents des glandes surrénales. En poursuivant nos recherches, nous avons étudié ultérieurement les lipides anisotropes de la surrénale chez l'animal. Les résultats de ces recherches sont en cours de publication.

Ayant continué nos études dans cette voie, nous apportons actuellement les faits observés par nous, après l'examen optique, dans les glandes génitales chez quelques animaux.

Des études sur la présence des produits biréfringents dans l'ovaire et le testicule ont été entreprises à la suite de l'impulsion donnée par L. Aschoff, par différents auteurs. Citons parmi ceux-ci D. Karwicka (1911), et surtout le travail inaugural de W. Arndt (1918) sur les lipoïdes anisotropes des organes sexuels de la femme, et les recherches de A. Kunze (1922) sur les lipoïdes physiologiques du testicule et de la prostate chez un certain nombre d'animaux.

Pour la bibliographie complète, nous renvoyons le lecteur au livre fondamental de M. W.-J. Schmidt, et au traité publié par Max.-M. Hirsch sur les sécrétions internes (1932).

La méthode optique nous permet mieux que les méthodes de coloration de faire la différenciation des lipides figurés. Les résultats d'observation par cette méthode histo-physique, corroborés avec les données des réactions histo-chimiques, sont capables de nous apporter un degré de précision plus avancé. Nous avons employé pour nos recherches tant l'examen en lumière polarisée, que l'examen des coupes colorées (Scharlach, bleu de Nil, Smith-Dietrich) ou soumises à des réactions histo-chimiques (Schultze, Windaus, etc.).

Nous n'allons pas faire dans ce travail une discussion sur la méthode optique; dans notre publication antérieure, signalée plus haut, nous avons cherché à fixer quelques points utiles pour l'in-

terprétation des résultats d'observation, que nous tenons à rappeler :

1° L'examen en lumière polarisée nous montre, sur des coupes fixées au formol et montées en glycérine, la présence de lipides figurés anisotropes, en général sous forme de cristaux solides, plus rarement de cristaux fluides ou sphéro-cristaux.

2° Les sphéro-cristaux, qui en lumière chromatique ont un signe positif, représentent, d'après Adami et Aschoff, et d'après W.-J. Schmidt, avec une grande probabilité, des cholestérides (cholestérol et ses esthers) ou des mélanges lipidiques où les produits cholestéridiques sont en abondance.

3° Les cristaux anisotropes cholestéridiques donnent par chauffage des sphérites à croix noire entre nicols croisés, de signe positif en lumière chromatique. Les cristaux d'acides gras se fragmentent par chauffage sans donner une croix positive.

Ce caractère sert à faire une distinction histo-physique entre les lipides biréfringents à observer.

Ces faits nous ont servi de base pour nos conclusions sur la nature des lipides figurés biréfringents des glandes examinées. Nous avons noté en même temps le caractère de couleur ou de réaction histo-chimiques des lipides observés.

Voici les données de nos observations sur l'ovaire adulte de la truie, de la vache, de la bufflesse :

1° Le follicule. — *Le follicule primordial* contient, comme on le sait, des granulations lipidiques dans le vitellus. Ces granulations de dimensions variables apparaissent en rouge au Scharlach, en mauve au bleu de Nil ; par le Smith-Dietrich, elles ont une teinte brun-violet. Quelques granulations peuvent être observées dans la couche unique des cellules folliculaires.

A l'examen optique, extinction; par conséquent, absence de lipides figurés biréfringents.

Dans le *follicule jeune ou en plein développement,* les granulations lipidiques de l'ovocyte deviennent plus abondantes, tout en conservant les mêmes caractères tinctoriaux. La granuleuse, qui apparaît pluristratifiée, contient également de nombreuses granulations lipidiques, surtout dans les cellules de la partie adjacente à la membrane de Slavianski. Quelques rares inclusions lipidiques se trouvent aussi dans la thèque interne. Ces granulations se colorent en rouge foncé par le Scharlach, en mauve par le bleu de Nil, en brun violet par le Smith-Dietrich (fig. 1). Absentes dans la thèque externe.

L'examen en lumière polarisée nous montre dans les cellules de la thèque interne de rares cristaux anisotropes (fig. 2, fig. 2′). Il s'agit en général de cristaux solitaires ou en V, plus rarement — comme dans l'ovaire de truie — formant de petits nids de 3 à 4 éléments.

Les cristaux sont du type aciculaire, minces, ayant une longueur de 2 à 4 microns (fig. 3). Ils apparaissent surtout sur les coupes traitées par la méthode de Windaus.

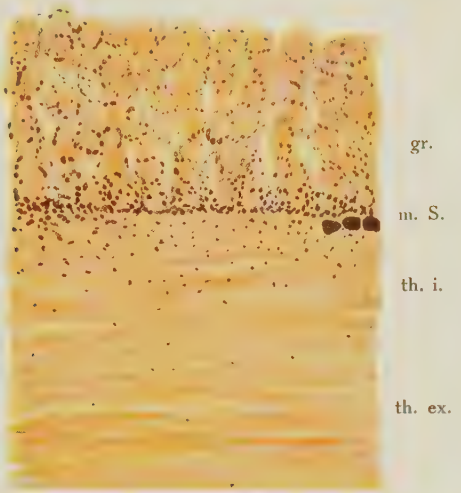


Fig. 1

Coupe au niveau de la paroi d'un *follicule mûr* (ovaire de truie). On en voit des granulations brunes au Smith-Dietrich, dans la granuleuse *(gr.)*, surtout dans les cellules adjacentes à la membrane de Slavianski *(m. S.)* et la thèque interne *(th. i.)*. La thèque externe *(th. ex.)* en est exempte.

Par chauffage, tous ces cristaux solides donnent des sphérites à caractère positif, dont certains ont un diamètre inférieur à deux microns (fig. 4). La plupart sont à la limite de la visibilité. Les préparations, réexaminées après cinquante jours, nous révèlent l'apparition de corps biréfringents même au niveau de la couche basale de la granuleuse. L'examen des coupes pratiquées à une période plus antérieure ne nous avait pas montré à ce niveau des cristaux.

Dans la thèque interne, sur ces mêmes coupes examinées tardivement, on trouve des agrégats de cristaux qui ne donnent pas,

après chauffage, des sphérites à croix positive. Ce sont des complexes de lipides non-cholestéridiques.

En résumé, le follicule primordial contient dans le vitellus des inclusions lipidiques, qui se colorent par le Scharlach (brique), le bleu de Nil (mauve), le Smith-Dietrich (brun violet), mais qui restent éteints à l'examen par la méthode optique. Les gouttes brunes sont à nul doute des lipides, non biréfringents.

Le follicule jeune et mûr présente également des inclusions lipidiques ayant les mêmes caractères tinctoriaux que les inclusions vitelliniques du follicule primordial, non seulement dans l'ovocyte, mais aussi dans la granuleuse et la thèque interne. Dans la granuleuse et surtout au niveau de la thèque interne, on trouve des lipides figurés anisotropes, à caractères cholestéridiques (cristaux donnant par chauffage des sphérites fluides à croix positive). L'apparition, après glycérine aussi, des agrégats de cristaux anisotropes, nous montre en outre la présence d'acides gras.

Nos observations vont de pair avec les faits signalés par Miculicz-Radecki qui affirme que la thèque interne du follicule jeune chez la femme contiendrait des cérébrosides, des phosphatides et peu de cholestérine. Signalons tout de même qu'au moins dans les follicules de la truie ou de la vache, il y a aussi des acides gras.

Par conséquent, dans le follicule jeune, il y a des cholestérides, des lipines, voire même des acides gras. Dans le follicule primordial, il n'y a pas encore de cholestérides, mais seulement des lipines (les granulations noires au Smith-Dietrich, du vitellus).

2° La glande interstitielle. — La glande interstitielle, d'après Limon, Bouin, Lahm, etc., est représentée par les follicules atrétiques. Dans son aspect le plus caractéristique, nous voyons des plages fusiformes ou semi-lunaires, constituées par un tissu raréfié, surtout à son centre, reste de la cavité folliculaire (fig. 5). Les cellules du follicule atrétique sont arrondies ou ovalaires, voire même à type fibroblastique. Leur cytoplasma contient des granules et des gouttes, plus ou moins nombreuses, colorées par le Scharlach en rouge (ocre-brique), en mauve par le bleu de Nil, en brun-violet avec le Smith-Dietrich. Certaines cellules sont bourrées d'inclusions et rappellent les corps granuleux. Au Schultze, on peut mettre en évidence des granules intracytoplasmiques colorées en vert, ce qui nous indique la présence du cholestérol et de ses esthers.

A l'examen optique des coupes non colorées, montées en glycé-

FIG. 2.

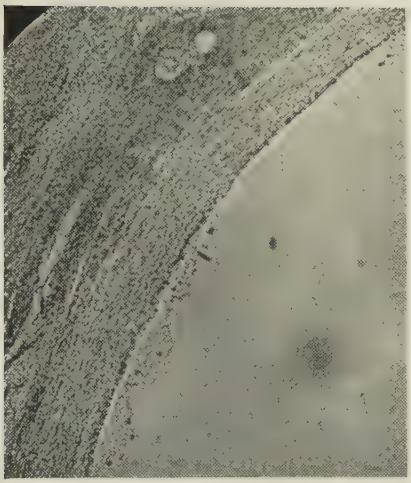


FIG. 2′.

FIG. 2. — Corps anisotropes *dans la thèque interne du follicule mûr* de vache.
FIG. 2′. — Sur la figure 2′, même champ en lumière directe pour reconnaître la topographie.

FIG. 3. — Un champ de la figure 2 à un fort grossissement (Zeiss. oc. 7, obj. 60) montrant les cristaux lipidiques de la *thèque interne*.

FIG. 4. — Par *chauffage*, les cristaux solides de la coupe précédente donnent des sphérites positifs, à croix de polarisation, ce qui dénote leur nature cholestéridique.

rine fragment fixé quelques jours dans le formol, on trouve des points rares biréfringents (fig. 6). A l'objectif 40, on voit qu'il s'agit de cristaux aciculaires, solitaires ou groupés en V. La plupart sont des éléments petits, autour de 3 microns, voire même plus petits, à peine visibles, d'autres atteignent 6 à 10 microns. La glande interstitielle de l'ovaire de vache et de bufflesse con-

Fig. 5

Follicule atrétique (glande interstitielle) dans l'ovaire de truie.
A remarquer la présence de gouttes mauves inclues dans les cellules interstitielles.

tient des cristaux anisotropes plus rares que celle de l'ovaire de truie.

L'examen des coupes après cinquante jours ne montre pas la formation d'agrégats de cristaux.

Par chauffage, tous les cristaux solides se transforment en sphérites à croix noire de polarisation, de caractère positif (lipides cholestéridiques). Ces sphérocristaux ont des dimensions réduites, leur diamètre est inférieur à deux microns (fig. 7). A

l'examen en lumière directe, sur le même champ, on voit mieux ces sphérites (fig. 7').

Sur les coupes colorées au bleu de Nil, entre les gouttes mauves, on distingue, toujours à l'intérieur du cytoplasma, des cristaux fins, biréfringents, qui ne prennent pas la couleur. Même sur les coupes au Smith-Dietrich, on peut observer quelques cristaux anisotropes entre les gouttes brunes. Il est probable que ces gouttes couvrent certains cristaux, qui sans la couleur auraient été observés à l'examen entre nicols croisés. Sur les coupes au Scharlach, on trouve également quelques corps biréfringents. Il s'agit de gouttes ovoïdes, réniformes, qui ne prennent pas la couleur. Ces gouttes présentent en lumière chromatique, dans la position NV-SE, une couleur jaune; dans la position NE-SV, le pôle supérieur est bleu, le pôle inférieur jaune (couleurs d'interférences). Il s'agit probablement de cristaux semi-fluides ou de masses à orientations moléculaires de sens multiples. Dans quelques gouttes, on peut noter même la présence d'un petit cristal solide anisotrope.

Les coupes non colorées traitées par la méthode de Windaus montrent une biréfringence plus accentuée.

En résumé, les follicules atrétiques, c'est-à-dire la glande interstitielle de l'ovaire, présentent, sur les coupes fixées au formol, des cristaux biréfringents intracellulaires, qui donnent par chauffage des sphérocristaux positifs, qui nous indiquent leur nature cholestéridique (esthers de cholestérine et cholestérol libre). La présence des produits de cette nature nous est d'ailleurs révélée aussi par la réaction de Schultze positive. Nous avons vu en outre des granulations et des gouttes colorées en brun violet par le Smith-Dietrich, traduisant dans les cellules du follicule atrétique la coexistence de lipines (phospholipines et cérébrosides).

On sait (citation d'après Lahm) que les cellules thécales, même avant la formation de la glande, contiennent des graisses neutres, des cérébrosides, des phosphatides et des cholestérides. Les observations de nos recherches montrent qu'en effet, du point de vue histo-chimique et histo-physique, on peut mettre en évidence la présence de lipines et de cholestérides, même dans la glande interstitielle.

Rappelons que, d'après A. Policard, la thèque interne chez la femme aurait probablement le même rôle que la glande interstitielle. Les faits observés par nous (présence de cristaux cholestéridiques dans le follicule atrétique et le follicule mûr) sont à

FIG. 6. — L'examen entre nicols en croix montre dans la glande interstitielle des produits anisotropes (cristaux).

FIG. 7. — Par le chauffage, on peut transformer les cristaux lipidiques en sphérites fluides à croix noire de polarisation.

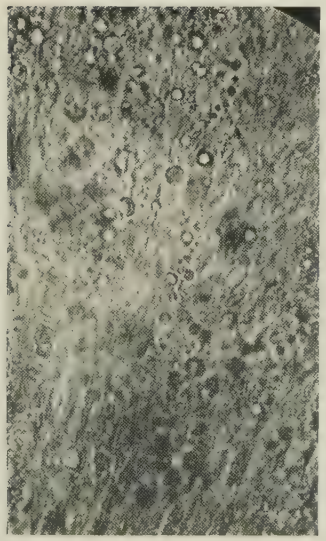


FIG. 7′. — *Même coupe* que la précédente, en lumière directe. On voit sur le champ de nombreuses sphérules, dont seulement quelques-unes ont de l'anisotropie.

FIG. 10. — *Corps jaune de truie* (formol-glycérine) en lumière polarisée.

l'appui de cette opinion, la sécrétion endocrine étant d'ailleurs de nature cholestéridique.

3° Le corps jaune en plein développement. — Sur les coupes non colorées, il apparaît comme on le sait, à l'examen macrosco-

Fig. 8

Corps jaune en évolution (truie) au Smith-Dietrich.

pique, l'aspect jaune doré dû au contenu lutéinique de ses cellules. Par des méthodes de coloration (fig. 8), on distingue facilement les deux sortes de cellules, c'est-à-dire les cellules à lutéine, polygonales ou arrondies, et celles du type histiocytaire conjonctif, celles-ci allongées et à prolongements caractéristiques.

Les cellules à lutéine contiennent dans leur cytoplasma des granulations lipidiques, qui se colorent en rouge foncé par le Scharlach, en mauve pâle par le bleu de Nil et en brun par la

méthode de Smith-Dietrich. Par cette coloration, le fond de la cellule est jaunâtre. L'ovaire de vache paraît plus riche en inclusions graisseuses colorées. Les cellules à caractère histiocytaire sont bourrées de granulations colorées en rouge ocre par le Scharlach; leur cytoplasma apparaît teint en bleu avec des granulations également bleues, par la méthode de Lorrain-Smith. Au Smith-Dietrich, ces éléments histiocytaires ont leur cytoplasma teint en brun, avec une légère nuance violette. La coloration est compacte et ne laisse pas voir des granulations. On voit, en outre, le dessin des prolongements cellulaires (fig. 9).

Fig. 9

Cellules du corps jaune, de la figure précédente. Les cellules lutéiniques ont des rares granulations brunes sur fond jaunâtre; les cellules de type conjonctif histiocytaire prennent une coloration compacte brune.

A *l'examen en lumière polarisée,* les préparations non colorées des fragments fixés trois jours dans le formol, montées en glycérine, nous montrent des corps biréfringents relativement peu abondants (fig. 10), disséminés sur toute la surface de la coupe et apparaissant plus denses à la périphérie. Le corps jaune de vache est *plus pauvre* en corps anisotropes que celui de la truie, se comportant ainsi d'une façon inverse du point de vue quantitatif que les granulations lipidiques colorées.

A un fort grossissement, à l'examen immédiat des coupes, on trouve des cristaux fins intracellulaires, inférieurs à deux microns. Par le chauffage, il apparaît entre nicols croisés des gouttes à contour annulaire biréfringent ou des croix noires bien distinctes, mais assez rares (fig. 11), croix de signe positif. En

FIG. 11. — *Même coupe* que la précédente, *après chauffage*. Au fort grossissement, on voit de rares sphérites à croix noire.

FIG. 12. — *Corps jaune de bufflesse*. Agrégats de cristaux à un petit grossissement.

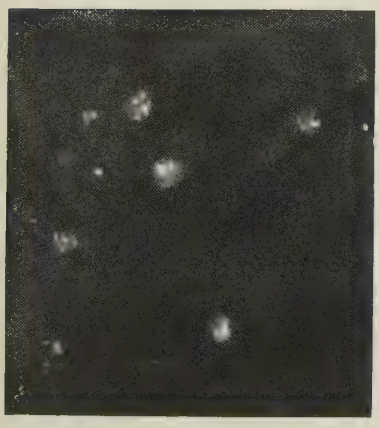


FIG. 13.

Id., à un fort grossissement.

FIG. 14. — *Corps jaune (ovaire de truie)* montrant des sphérolithes (polarisations-agrégats) à croix noire, de signe négatif en lumière chromatique.

outre, on trouve d'assez nombreux cristaux et des sphérites déformés. On voit encore des sphérules complètement éteints. Les gouttes ayant seulement un anneau anisotrope (avec esquisse de croix) sont fort probablement des mélanges de lipides cholestériques avec des graisses neutres, voire même des complexes lipo-protéiques. Les cristaux qui persistent après le chauffage sont des acides gras.

Dans le corps jaune de bufflesse, le nombre des sphérites à croix de polarisation positive est plus marqué. Par la méthode de Windaus, la biréfringence du corps jaune diminue fortement. On trouve, après vingt-quatre heures de conservation en solution de 0,50 % d'alcool dilué, seulement de très rares cristaux anisotropes sur la coupe.

L'examen des préparations montées en glycérine, pratiqué après cinquante jours, montre sur certaines coupes une augmentation de la biréfringence globale (fig. 12). Avec un fort grossissement, on voit des amas anisotropes, quelques-uns parfaitement sphériques, à bord finement dentelé. Il s'agit de sphérolithes ayant leur diamètre autour de 8 à 10 microns (fig. 13). Ces sphérolithes montrent les caractères de biréfringence des agrégats de cristaux (« *Polarisations-agrégats* »). En effet, des cristaux extrêmement fins apparaissent, en partie conglobés, disposés de manière radiée autour d'un point central éteint. Ces formations sphériques, qu'on voit surtout dans l'ovaire de truie, ont une croix noire de polarisation (fig. 14), qui, en lumière chromatique, est de signe négatif, c'est-à-dire avec les bras situés dans la position NE-SV, jaunes, les autres bleus.

Par chauffage, ces formations ne changent pas. Mais on trouve encore sur le champ, parmi celles-ci, de rares sphérites positifs, d'un diamètre inférieur à 2 microns, caractéristiques pour les lipides cholestéridiques. Les cristaux formant des agrégats de polarisation sont fort probablement constitués seulement d'acides gras.

Les agrégats de cristaux n'apparaissent que tardivement et seulement sur des coupes en glycérine. Les coupes des fragment maintenus dans le formol 15 % pendant deux mois, examinées immédiatement, ne présentent pas des agrégats de cristaux, mais elles offrent un aspect analogue à celui observé sur les coupes après trois jours de fixation formolée (montage en glycérine). Cela nous montre que c'est le milieu glycérinique qui fait apparaître des agrégats de cristaux au dépens des lipides masqués (lipo-protéides).

En ce qui concerne la nature chimique des lipides du corps

jaune des animaux examinés (vache, truie, bufflesse), elle est complexe. Parmi les lipides biréfringents, une petite partie est constituée par des cholestérides, la partie la plus importante est formée d'acides gras (les cristaux et les agrégats de cristaux qui ne donnent pas de croix positives). Comme lipides colorés, nous

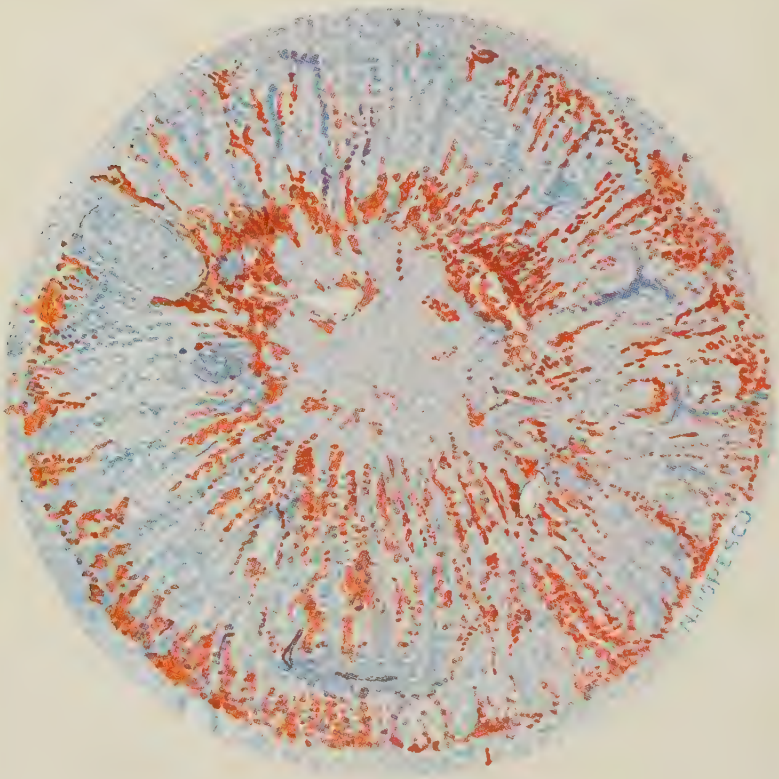


Fig. 15

Corps jaune en régression, chez la vache (Sharlach hématoxyline), montrant une structure radiaire, avec les centres de tissu hyalin.

trouvons surtout des lipines (les granulations noires au Smith-Dietrich des cellules à lutéine et le contenu noir compact des éléments histiocytaires).

Le corps jaune en régression. — L'aspect morphologique de cette formation est caractéristique. Des traînées radiaires de cellules allongées, fusiformes, se dirigent vers le centre de cette for-

mation constitué par du tissu hyalin (fig. 15). Les cellules sont remplies de granulations qui apparaissent en rouge jaune au Scharlach, comme la lipofuschine, en bleu foncé sur le fond bleu

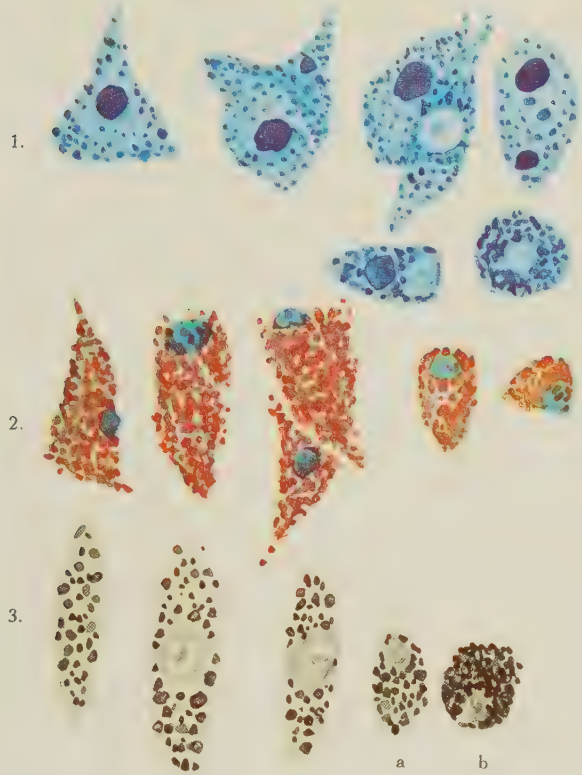


Fig. 16

Cellules du *corps jaune en régression* et cellules des traînées interstitielles *(a, b.)* de l'ovaire de vache, colorées au bleu de Nil *(1)*, au Scharlach *(2)* et au Smith-Dietrich *(3)*.

pâle du cytoplasma, au Lorrain-Smith. Par la coloration de Smith-Dietrich, les inclusions se colorent en brun violet (fig. 16).

En lumière polarisée, avec un objectif faible, apparaît sur le champ une luminosité diffuse (fig. 17) jaune doré. Avec un objectif plus fort, dans chaque cellule, on distingue de nombreux cristaux anisotropes (fig. 18), courts et minces. Leur longueur est autour d'un microne. D'autres sont à la limite de la visibilité. Ils

sont répartis d'une façon uniforme dans le cytoplasma, sans être conglobés. Sur les coupes au Scharlach et au bleu de Nil, la biréfringence est diminuée. Les cristaux n'apparaissent pas colorés.

Par chauffage, pulvérisation des cristaux sans formation de sphérites (caractères des acides gras).

L'examen des coupes non colorées, conservées en glycérine, pratiqué cinquante jours plus tard, nous montre l'apparition d'agrégats de cristaux seulement à la périphérie, dans le tissu conjonctif avoisinant le corps jaune en régression.

Les coupes traitées par la méthode de Windaus nous montrent après une heure un abaissement notable de l'anisotropie, avec disparition complète vingt-quatre heures plus tard, ce qui signifie la dissolution dans l'alcool dilué de ces cristaux lipidiques.

Rappelons que sur les mêmes coupes, dans la glande interstitielles et la thèque interne des follicules mûrs, il y a une augmentation du nombre des cristaux biréfringents, qui donnent des sphérites positifs par chauffage.

La conclusion en est que les cellules du corps jaune en régression, chez la truie et la vache, ne contiennent pas des cholestérides. D'ailleurs, au Schultze, elles sont également négatives. La coloration brune avec une nuance violacée au Smith-Dietrich y montre la présence de lipines. Probablement que ces granulations lipiniques sont colorées en bleu intense par le Lorrain-Smith. L'absence de gouttelettes roses par cette même méthode nous indique l'absence de la trioléine (glycéride non saturé) dans le cytoplasma de ces cellules. La présence de cristaux biréfrigents, qui ne donnent pas de sphérites à croix noire entre nicols croisés, nous montre que ces lipides figurés intracellulaires sont des acides gras probablement du groupe de l'acide palmitique ou stéarique.

Après un séjour de cinq jours en acétone, la biréfringence disparaît complètement. Dans le corps jaune en régression reste cependant le pigment jaune des cellules, qui prend encore le Scharlach. Au Smith-Dietrich, il se colore également en brun violet. C'est une preuve de plus de la nature lipinique de ce pigment et en même temps une preuve que les cristaux biréfringents du corps jaune en régression, qui disparaissent après acétone, ne sont pas constitués par des lipines.

Par conséquent, dans le corps jaune en régression, chez la vache, la truie, la bufflesse, l'examen histo-chimique et l'examen histo-physique concluent pour la présence des lipines (phosphatides et cérébrosides) et des acides gras, avec absence de cholesté-

rides. Chez la femme, on trouve cependant aussi des cholestérides (sphéro-cristaux).

Ces faits seraient pour nous un indice qu'il ne s'y agit pas d'une dégénérescence graisseuse du corps jaune en régression. Nous sommes convaincus que même cette formation joue un rôle dans la physiologie de l'ovaire. Peut-être que les cristaux d'acide gras qui s'y trouvent sont utilisés comme des activateurs de l'hormone interstitielle, si l'on juge par analogie avec ce qu'on a observé pour le testoteron (Laqueur et ses collaborateurs). Il nous apparaîtrait un peu trop particulier que l'organisme ait le rôle de créer des dégénérescences physiologiques, comme on le croit en partie pour le corps jaune en régression.

Chez l'animal jeune (veau, agneau), on trouve des follicules en évolution et des follicules atrétiques, avec absence de corps jaune. Au niveau de ces follicules, il y a des granulations lipidiques avec les mêmes caractères de coloration comme chez l'animal adulte, mais moins nombreuses. En outre, il y a aussi de rares cristaux anisotropes, fins, aciculaires, isolés dans la thèque interne des follicules et aussi dans les cellules interstitielles. Ce sont toujours des lipides cholestéridiques, car par le chauffage ils se transforment en sphérites fluides positifs.

Chez la génisse, on trouve de plus un corps jaune en évolution qui offre les mêmes caractères que pour l'ovaire de vache, mais à la différence que les lipides colorés sont plus abondants, tandis que les corps anisotropes sont plus rares.

Après cinquante jours, on remarque au niveau du corps jaune en évolution des agrégats de cristaux ayant tous les caractères des « *Polarisations-agrégats* ». Ils ne donnent pas des sphérites positifs.

Les produits biréfringents du testicule. — Nous avons examiné le testicule du taureau, du buffle, du bouvillon et aussi les glandes de quelques animaux impubères (agneau, veau, petit cochon).

Chez le taureau, le buffle, le bouvillon, on trouve de fines inclusions dans les spermatogonies, moins dans les spermatocytes et spermatides, qui se colorent en rouge brique avec le Scharlach, en mauve avec le bleu de Nil et en brun violet par le Smith-Dietrich. Les spermatozoïdes n'ont pas d'inclusions scharlachofiles, mais, par le Smith-Dietrich, leur manteau lipinique apparaît coloré en brun (fig. 19).

Nous n'insistons pas sur les détails de structure histo-chimique

du spermatozoïde, pour lesquels nous trouvons des faits intéressants dans le travail de V.-D. Mârza.

Dans les cellules interstitielles, il y a de nombreuses granulations scharlachofiles, qui se colorent en mauve par le bleu de Nil. Quant au Smith-Dietrich, les granulations brunes violettes sont plus rares. Par la méthode de Schultze, on ne voit pas de gra-

Fig. 19

Tube séminifère et glande interstitielle *(testicule de taureau)* au Smith-Dietrich.

nulations colorées en vert chez les animaux, mais nous avons constaté chez l'homme une réaction positive au Schultze au niveau des plages interstitielles.

A l'examen optique, on observe seulement au niveau de la zone des spermatozoïdes des parties anisotropes. A un fort grossissement, on y voit des filaments biréfringents (fig. 20), observables aussi en lumière directe (fig. 21).

Par chauffage, l'aspect de ces filaments anisotropes ne change pas. Quant à la présence de ce phénomène de biréfringence au niveau du spermatozoïde, nous allons rappeler que W. J. Schmidt

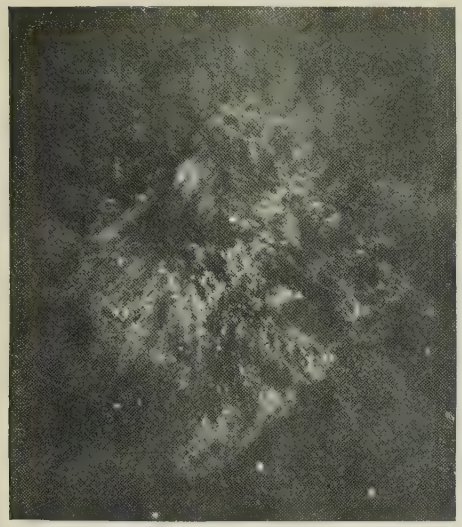


FIG. 17. — *Corps jaune en régression*, examiné entre nicols croisés. A remarquer la biréfringence faible des traînées radiaires de cellules.

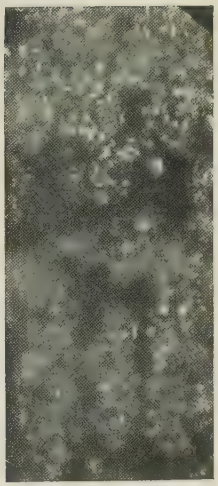


FIG. 18. — Un champ de la microphoto précédente, permettant de voir à un plus fort grossissement des cristaux lipidiques anisotropes.

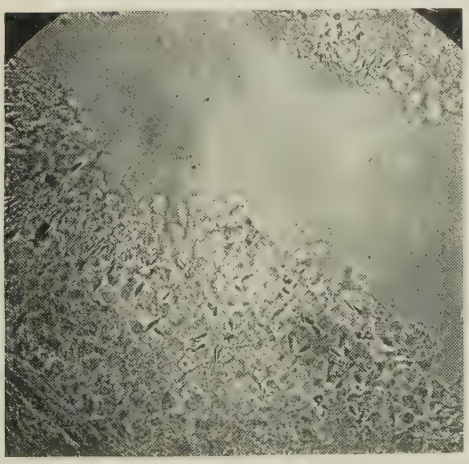


FIG. 20.

FIG. 21.

FIG. 20 et 21. — *Tube séminifère du testicule de taureau* montrant, au niveau de la zone des spermatozoïdes, des bâtonnets qui, entre nicols croisés (fig. 21), sont biréfringents.

FIG. 22. — *Glande interstitielle chez l'homme.* On en voit, en lumière polarisée, des plages de sphérocristaux à croix noire (cholestérides).

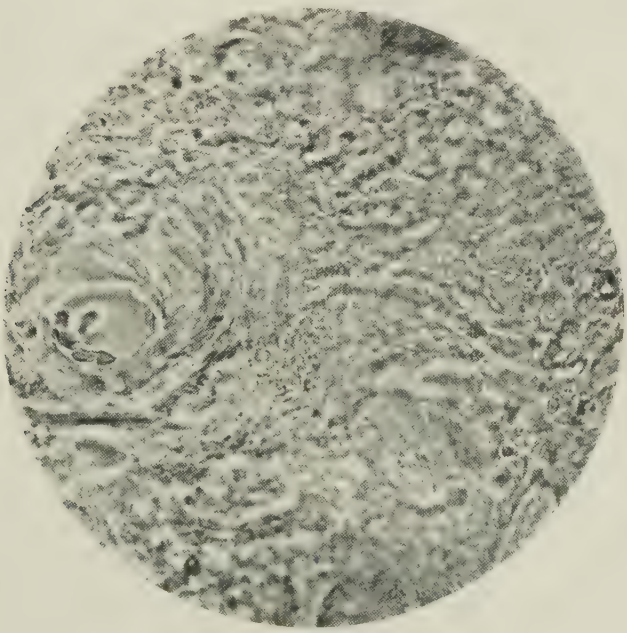


FIG. 22′. — *Même champ* en lumière directe.

a montré que la partie chromatique de la tête du spermatozoïde offre une anisotrope de caractère négatif (uniaxe). Cette partie n'est autre que de la chromatine, qui dans le spermatozoïde prend l'aspect d'un bâtonnet ou filament. Elle est constituée chimiquement par des nucléo-protéides (Miescher et Kessel, Stendel). A l'examen optique des coupes de testicule de taureau, les bâtonnets biréfringents observés par nous et que nous avons considérés au premier moment comme des cristaux, étaient également de caractère négatif.

G. Valentin, Th. W. Engelmann, Mac Kinnon et Vlès, et, les dernières années, W. J. Schmidt et son élève E. Pattri, ont observé aussi la biréfringence de la queue du spermatozoïde (qui chez les Salmonides, contiendrait du cholestérol); cette biréfringence est cependant de signe inverse, c'est-à-dire positive dans le sens de la longueur. Ces recherches ont été faites sur une série d'animaux (grenouille, rat, triton, moineau, taureau, cobaye, etc.). — Nous n'avons pas entrepris une étude sur la structure optique du spermatozoïde, examiné en dehors du tube séminifère, mais seulement nous avons tenu à signaler pour le moment l'aspect de l'anisotropie de cette formation, *in situ*.

Les plages de cellules interstitielles ne présentent pas de corps anisotropes chez les animaux examinés sur les coupes maintenues en glycérine au moins vingt-quatre heures.

L'examen, pratiqué cinquante jours plus tard, nous montre l'apparition de rares agrégats de cristaux anisotropes (sphérolithes) tant dans les tubes séminifères qu'au niveau de la glande interstitielle; dans celle-ci, ces produits sont plus abondants.

Chez les animaux impubères, il y a de fines granulations colorées et absence de biréfringence; mais, sur les coupes examinées après cinquante jours, on voit apparaître de rares agrégats de cristaux à l'aspect des sphérolithes décrits plus haut. De tels agrégats existent aussi dans la glande adulte, mais dans le testicule des animaux impubères, la biréfringence est plus intense : les agrégats de cristaux sont plus nombreux et ils offrent des croix de polarisation à caractère négatif (acides gras).

En ce qui concerne la présence des produits lipidiques biréfringents chez des animaux, rappelons que A. Kunze a signalé chez le chien, le matou, le rat, le bouc, de très rares sphérocristaux dans la glande interstitielle.

Sur des recherches faites sur l'homme, nous avons constaté aussi des produits anisotropes dans les tubes, voire même dans les cellules séminifères.

Quant aux produits biréfringents de la glande interstitielle humaine, nous y avons trouvé d'une façon constante de corps anisotropes; en général, il s'agit de sphérocristaux positifs (cholestérides) (fig. 22 et 22′), et d'une façon exceptionnelle de cristaux d'acides gras. Nos recherches dans cette voie sont en cours et nous allons communiquer ultérieurement les résultats.

BIBLIOGRAPHIE

Arndt (W.) : « Ueber das physiologische und pathologische Vorkommen morphologisch darstellbarer Lipoide in den Geschlechtsorganen des Weibes. » (*Med. Diss.*, Berlin, 1918.)

Adami et Aschoff : « On the myelins, myelin bodies and potential fluid crystals of the organism. « (*Proc. R. Soc. London*, Bd. 78, 1906, p. 359.)

Aschoff (L.) : « Zur Morphologie der lipoiden Substanzen, ein Beitrag zur Verfettungsfrage. « (*Zieglers Beitr. zur path. Anat.*, Bd. 1910, p. 1.)

Draganesco et Tucolesco : « Recherches sur les lipides figurés biréfringents des glandes surrénales chez l'homme dans divers états pathologiques. » (*Bull. et Mém. de la Sect. d'Endocr.*, 4e an., nos 9-10, novembre et décembre 1938.)

Lahm (W.) : « Ovarium, Uterus, Scheide, Klitoris, Plazenta und Brustdrüse als innersekretorische Drüsen vom Standpunkte der Embryologie und Morphologie. » (In der *Handbuch de Inneren Sekretion*, von Max Hirsch.)

Jaffe (Rud.) et Berberich (F.) : « Hoden. » (In *derselben Handbuch.*)

Karwicka (d) : « Ueber das physikalische Verhalten und das physiologische Vorkommen der doppelbrechenden Lipoide. » (*Zieglers Beitr.*, Bd. 50, 1911.)

Künze (Alfred) : « Das physiologische Vorkommen morphologisch darstellbarer Lipoide in Hoden und Prostata mit besonderer Berücksichtigung der Haussängetiere. » (*Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 96, 1922.)

Mîrza (D.-V.) : *Histochimie du spermatozoïde.* Iasi, 1930.

Schmidt (W.-J.) : *Die Bausteine des Tierkörpers in polarisierten Licht*, 1924. Verlag von Friedrich Cohen, Bonn, et *Die Doppelbrechung von Karyoplasma, Zytoplasma u. Metaplasma*, Berlin, Verlag von Gebr. Borntträger, 1937.

RECHERCHES SUR LES GASTROPHILES EN ROUMANIE

(Etude systématique et biologique)

par

G. DINULESCO

(Laboratoire de Parasitologie
de la Faculté de Médecine vètérinaire, Bucarest)

Les Gastrophiles sont des œstridés libres à l'état adulte et parasites à l'état larvaire, se développant sur le trajet du tube digestif, dans la bouche, le pharynx, l'estomac, le duodénum et le rectum des chevaux, ânes et zèbres, produisant souvent des troubles dangereux pour la vie des animaux.

La systématique de ces insectes, la morphologie, ainsi que leur biologie, ont fait l'objet de quelques études récentes — de la part de plusieurs auteurs.

Nous avons donné aussi plusieurs dates sur ces insectes dans quelques publications antérieures.

Les larves des espèces adaptées au développement dans l'estomac provoquent les troubles, dont quelques-uns sont connus, comme les gastrites ulcéreuses et les perforations de la paroi de l'estomac et de l'intestin.

Dans nos recherches antérieures, nous avons été préoccupé, d'une part, par la morphologie et la biologie, spécialement le développement des stades larvaires, qui étaient peu connus; d'une autre part, par la pathogénie de ces Gastrophiles.

L'étude morphologique nous a montré que les larves présentent des organes spéciaux, le corps adipeux et le corps rouge qui permettent aux larves de réaliser un métabolisme spécial comme parasites, vivant dans des milieux dépourvus d'air et d'oxygène libre. Les recherches expérimentales concernant le métabolisme et la respiration nous indiquent chez ces larves l'existence d'une vie aérobe et anaérobe.

Les observations faites sur leur développement nous ont permis d'établir le cycle évolutif, spécialement le développement des premiers stades larvaires chez toutes les espèces de Gastrophiles.

Enfin les différentes observations concernant la pathogénie nous démontrent que les Gastrophiles sont la cause de deux affections pathologiques spéciales :

1° La dermite estivale des joues — nommée par nous la *myiase gastrophilienne des joues* — chez le cheval est due à l'espèce *Gastrophylus inermis* Brauer. Les larves au premier stade creusent des galeries sinueuses dans la peau des joues, des commissures des lèvres, en produisant les lésions caractéristiques.

2° Les tumeurs parasitaires duodénales chez les chevaux sont produites par *Gastrophylus meridionalis* P. et Ew. Les larves arrivées aux stades II et III s'enfoncent dans la paroi duodénale en produisant les tumeurs parasitaires connues.

Nos observations se sont étendues aussi sur les troubles produits par les larves des espèces stomacales de Gastrophiles. Ces observations feront l'objet d'une prochaine publication.

Le matériel qui a servi à nos recherches antérieures a été, dans la plus grande partie, récolté pendant plusieurs années dans des différentes régions du pays.

Avec ce matériel, nous avons eu la possibilité de faire quelques observations concernant la systématique et la biologie des Gastrophiles de Roumanie. C'est cette étude qui fait l'objet de la présente publication.

Nous ajoutons que nous ne connaissons, dans la bibliographie scientifique, aucun travail concernant la question étudiée par nous.

L'importance de ce travail résulte de ce que, par la connaissance des conditions biologiques des Gastrophiles en Roumanie, on facilite en grande mesure l'application des moyens de combat de ces parasites.

LA RÉCOLTE DU MATÉRIEL

Pour étudier la distribution et le développement des Gastrophiles dans les différentes régions de Roumanie, nous avons fait un appel à nos collègues médecins vétérinaires de l'armée, de nous envoyer des larves récoltées sur les chevaux morts ou tués, des larves éliminées par les chevaux dans les écuries ou dans les parcs.

Une grande partie de nos collègues ont répondu avec beaucoup de bienveillance, et nous avons obtenu ainsi les matériaux des localités indiquées dans le tableau I (1).

Nous avons personnellement récolté du matériel de la même manière dans les localités : Bolgrad (dépt Ismail) et Bucarest (tableau II). Avec les larves envoyées et avec celles récoltées par nous, nous avons fait des cultures, obtenant de nombreux exemplaires adultes. Nous avons fait aussi par capture une riche récolte d'insectes adultes dans les localités Bolgrad et Ismail.

La récolte des matériaux et les recherches ont duré quatre années : 1925, 1927, 1928 et 1937.

LES ESPÈCES DE GASTROPHILES DE ROUMANIE

Nous signalons la présence des espèces suivantes de Gastrophiles :

Gastrophylus intestinalis de Geer.
Gastrophylus pecorum Fbr.
Gastrophylus hæmorhoidalis L.
Gastrophylus nasalis Clark.
Gastrophylus nasalis var. aureus. n. v. Dinulesco.
Gastrophylus inermis Brauer.

DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE

Gastrophylus intestinalis de Geer (fig. 1 et 2).

Le mâle, 11-15 millimètres. La couleur du corps d'un jaune brunâtre, avec des taches noirâtres et des poils courts blanc jaunâtre.

Les ailes sont hyalines avec une grande tache brune, moyenne, et deux taches punctiformes disposés vers leur bout.

(1) Nous donnons ici les noms de MM. les Médecins vétérinaires qui nous ont envoyé du matériel, avec prière de recevoir par cette voie nos remerciements les plus vifs : MM. Lt.-Col. Dr. Lucesco, Tecuci; Cpt. Dr. Grigoresco, Iași; Major Dr. Prelipceanu, Bistrița; Major Dr. Grigoresco, Botoșani; Major Dr. G. Nițulesco, Cluj; Major Dr. Vlad Stoica, Dej; Lt.-Col. Dr. Brâncoveano, Brașov; Dr. G. Popovici, Călărași; Col. Dr. Anghelescu, Bălți; Dr. St. Epureano, Chișinău; Major Dr. I. Dinulescu, Tucnu-Severin; Lt.-Col. Dr. G. Vlad, Constanța; Major Dr. Pascano, Botoșani; Major Dr. G. Constantinesco, Târgoviște; Major Dr. Solomon, Timișoara; Cpt. Dr. Andreesciuc, Jegălia, département Ialomița ; Dr. T. Gafa, Brăila.

La tête a presque la même largeur que le thorax; la couleur, en haut d'un jaunâtre pâle, présente au milieu un trait léger plus foncé; en bas, la couleur est blanchâtre et, vers la base, des antennes noirâtres. Ces organes sont courts et leur troisième article plus long que le deuxième. La couleur des antennes est jaune brunâtre, avec les premiers articles noircis vers la partie intérieure. Le bout est long et fin, épaissi et plus foncé à la base. La région buccale est brune, la partie inférieure d'un jaune brunâtre et quelquefois avec des points bruns sur la partie postérieure. Les poils de la tête sont fins, minces et courts, blanchâtres ou jaunâtres; vers la nuque, les poils sont noirs.

Le thorax, un peu courbé vers la région dorsale, a une couleur brun olive dans la partie antérieure et jaune brunâtre vers la partie postérieure. Les poils ont des couleurs variées; dans la partie antérieure, ils sont d'un blanc gris brillant, les autres même rougeâtres; vers le milieu, se trouve une bande de poils noirâtres. Sur les côtés du thorax, en haut, il y a des poils blanc jaunâtre ou rougeâtres; en bas, le corps a une couleur noir brillant, avec des poils rares blanc jaune rougeâtre.

Les pattes sont longues et minces. Les fémurs des pattes postérieures sont longs. Le trochanter présente un éperon long et recourbé. La couleur des pattes est d'un jaune brunâtre et, sur le fémur, on voit souvent de légères bandes foncées. Les griffes sont d'un jaune brunâtre avec le bout noir. L'abdomen allongé se termine postérieurement avec l'armature génitale. La couleur de l'abdomen dans la partie dorsale est brun jaunâtre, avec plusieurs taches brun foncé. Sur chaque segment, on voit à la partie antérieure cinq taches dont la moyenne et les deux premières taches latérales sont plus développées. Ces taches deviennent de moins en moins apparentes sur les segments postérieurs. Ici la couleur de l'abdomen devient plus foncée. Quelques exemplaires ont l'abdomen d'une couleur uniformément foncée sur toute la moitié postérieure. La partie inférieure de l'abdomen est colorée en brun foncé. Les poils sont courts et fins, soyeux, blanchâtres ou jaune d'or.

Les ailes sont grandes, hyalines, avec une légère couleur blanchâtre, présentant au milieu une bande foncée, interrompue à la partie postérieure. Elles présentent à leur extrémité deux autres taches foncées. Les nervures sont jaune brun et les balancières sont petites et blanchâtres.

La femelle, 16-21 millimètres (avec l'oviscapte) est un peu plus volumineuse que le mâle. La coloration des régions céphalique

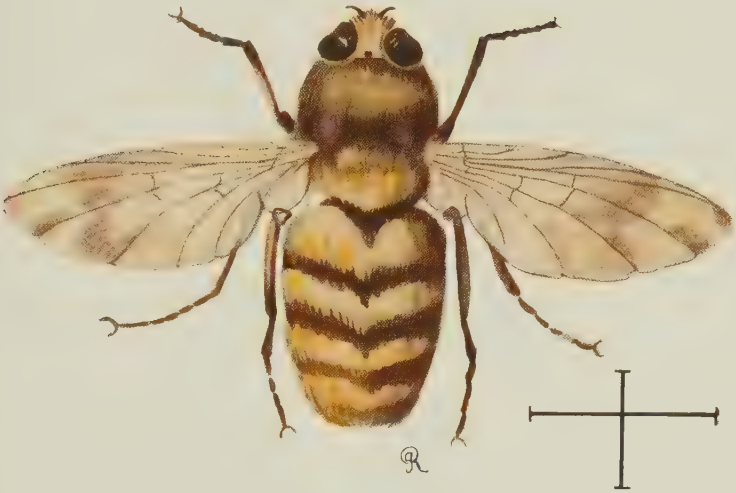


Fig. 1. — Gastrophylus intestinalis de Gees ♂

Fig. 2. — Gastrophylus intestinalis de Gees ♀

et thoracique est semblable, mais les poils sont un peu plus brillants. Les pattes postérieures sont dépourvues de l'éperon sur le trochanter. Les ailes présentent les mêmes caractères que chez les mâles. L'abdomen est plus large dans la partie antérieure et vers le milieu, et plus mince dans sa partie postérieure, où il se termine par un oviscapte long de 2 millimètres. La coloration est plus vive: sur un fond jaune brunâtre clair, se dessinent les mêmes taches, mais beaucoup plus foncées et plus distinctement colorées. La partie postérieure et l'oviscapte sont brun noirâtre.

Il y a des variations importantes concernant la taille et la coloration. La plupart des individus ont une longueur de 11-15 millimètres pour les mâles, et de 16-21 millimètres pour les femelles. Parmi les exemplaires étudiés nous observons quelques individus d'une taille beaucoup plus petite. Ainsi il y a des mâles à 8 millimètres et des femelles à 10 millimètres de longueur. La coloration varie chez les mâles comme chez les femelles. Il y a des mâles avec une couleur plus foncée; spécialement la couleur de l'abdomen peut être brun noirâtre et les taches brunes sont moins distinctes. Chez les femelles, on observe une variation de couleur en sens inverse de celui des mâles. La couleur de quelques exemplaires est jaune d'or clair et les taches brunes sont très distinctement dessinées.

***Gastrophylus pecorum* Fbr.** (fig. 3 et 4).

Le mâle, 15-20 millimètres. La couleur du corps d'un jaune d'or presque uniforme avec des taches brun clair, plus évidentes sur l'abdomen. Les poils sont courts, blanc jaunâtre, soyeux. Les ailes en partie hyalines présentent des taches, les unes gris clair, les autres gris foncé. La tête est plus mince que le thorax, d'une couleur brune en haut, plus foncée en arrière avec la face inférieure blanc jaunâtre.

Les antennes sont allongées avec un article basal court et petit ; le second article est plus long que le troisième et celui-ci ne dépasse pas en longueur la moitié de la longueur de l'article suivant. L'article terminal est très long et fin, d'une couleur jaune brunâtre, la base étant plus grosse et presque noire. Les premiers articles des antennes sont couverts de poils fins jaunâtres. Les poils de la tête sont jaune d'or, noirs ou jaune brunâtre. Le thorax est brun jaunâtre avec une bande dorsale noire. Le dos, beaucoup recourbé, est richement vêtu de poils jaune olive ou or brillant. Derrière la suture transverse se trouve une bande de

poils noirs, interrompue au milieu par un groupe de poils jaunes. Les côtés de la poitrine sont bruns, munis de grands poils jaunes. La partie sous-thoracique est touffue avec des poils noirs. Les pattes sont fragiles, mais suffisamment développées avec le trochanter allongé et lisse, et le coxal plus gros vers sa base. Les articles tarsiens sont cylindriques, le tarse des pattes postérieures étant plus long que le tibia. Le premier article tarsien est deux fois plus grand que le second. La couleur des pattes est noirâtre vers la base avec des poils foncés, sur le reste étant jaune brunâtre avec des poils jaune d'or. L'abdomen plus large que le trochanter est court, en forme de cœur, plus bombé en haut, concave en bas et légèrement courbé en arrière. A l'extrémité postérieure, il est un peu pointu. L'armature génitale est légèrement visible. La couleur de l'abdomen est brun jaunâtre, en bas plus foncée et en haut plus claire. Les poils de l'abdomen sont jaune d'or sur sa partie dorsale et plus foncés sur la partie ventrale. Les ailes pas trop grandes sont hyalines, avec deux taches allongées, une transversale vers le milieu et l'autre située vers leurs extrémités.

La femelle, 15-20 millimètres. La tête et le thorax présentent la même conformation que chez le mâle, la coloration étant seulement plus foncée. Les poils situés derrière la suture transverse du thorax ont une couleur plus foncée.

L'abdomen, beaucoup plus large et trois fois plus long que le thorax, se termine avec un oviscapte très allongé formé par trois articles. Il est beaucoup recourbé vers la partie ventrale du corps, sa couleur étant brun foncé, presque noire. Le premier article est un peu jaunâtre sur les côtés, les autres étant recouverts de poils noirs. Les ailes sont plus courtes que l'abdomen et la couleur est beaucoup plus claire que chez le mâle, avec deux bandes grises qui s'étendent sur toute la largeur des ailes.

Parmi les individus de cette espèce, il n'y a pas de grandes variations de taille. Nous observons seulement des variations de la couleur des ailes, spécialement chez la femelle. Les ailes sont parfois légèrement hyalines avec les taches caractéristiques, mais quelquefois les taches sont très étendues et les ailes sont presque complètement gris noirâtre.

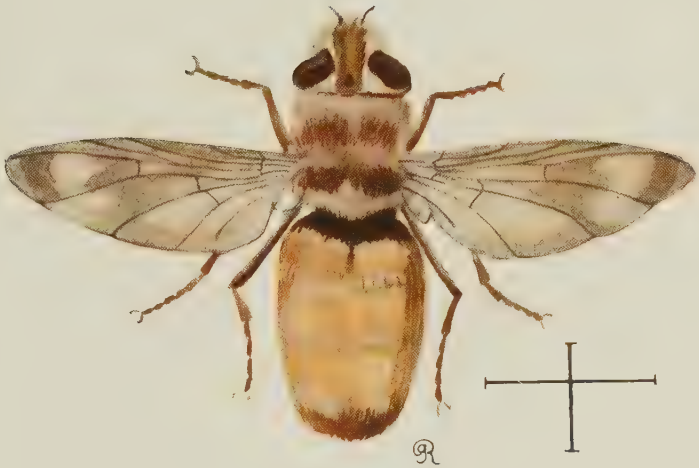


Fig. 3. — Gastrophylus pecorum Fbr. ♂

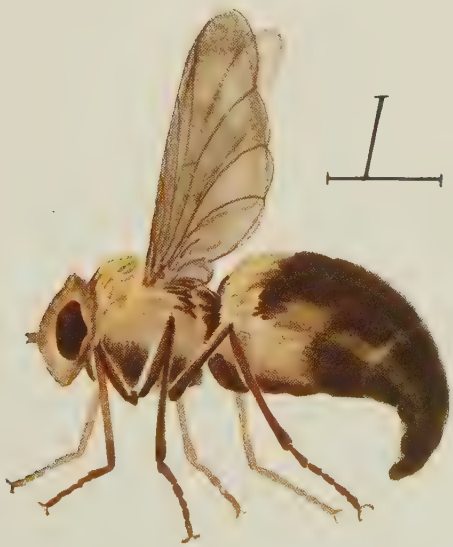


Fig. 4. — Gastrophylus pecorum Fbr. ♀

***Gastrophylus hæmorhoidalis* L.** (fig. 5 et 6).

Les individus appartenant à cette espèce ont la coloration du corps presque uniforme chez les deux sexes.

Les quelques caractères extérieurs différentiels sont à peu près insignifiants.

Le mâle, 9-14 millimètres. La tête a la même largeur que le thorax, colorée en haut en brun, et plus claire au milieu et vers les yeux. Les antennes sont jaune brun foncé. L'article basal noir est très peu poilu, sa partie terminale étant brun noir. La partie inférieure de la tête est blanchâtre. La partie supérieure du thorax est colorée en gris blanchâtre, avec les côtés d'un blanc brillant. Au milieu se trouve une bande de poils noirs située sur un fond entièrement noir. Les côtés de cette bande sont pourvus de poils plus longs gris blanc et jaunâtres. La face inférieure du thorax est brun noirâtre avec des poils jaune blanchâtre brillant. Les pattes sont longues et leur partie supérieure est noirâtre ou brune. Le tibia et le tarse sont jaune brunâtre avec les griffes noirâtres. Le premier article tarsien des pattes postérieures est plus épais et le second a une longueur des deux tiers du premier.

Les ailes sont uniformément blanchâtres et hyalines.

L'abdomen, allongé et légèrement courbé en arrière, se termine avec les pièces de l'armature génitale. Le premier article de l'abdomen, noir brillant, est plus long que large. Les poils sont longs et, quoique dans la partie antérieure colorés en blanc jaunâtre, sur le troisième et une partie du quatrième segment, ils sont noirs. Vers la partie postérieure, les poils sont jaune orange. Sur la partie inférieure de l'abdomen, il y a seulement des poils jaune gris.

La femelle, 10-14 millimètres. Le corps est généralement plus mince et plus allongé que chez le mâle, avec la tête un peu plus large que la partie antérieure du thorax. La couleur du thorax est semblable à celle du mâle. Le premier article tarsien de la dernière paire de pattes est aminci, et le second article a la moitié de la longueur du premier.

L'abdomen plus allongé se termine avec l'oviscapte, de couleur noirâtre. La bande postérieure de poils jaune orange est moins étendue que chez les mâles.

Chez cette espèce, on remarque de grandes variations de taille. Il y a des exemplaires très petits, seulement 8-9 millimètres de

longueur. On voit encore une légère variabilité de l'intensité du pelage; quelques exemplaires — spécialement les mâles — sont richement pourvus de poils fins blanc jaunâtre.

***Gastrophylus inermis* Brauer** (fig. 7 et 8).

Le mâle, 11-12 millimètres. La tête a la même largeur que le thorax, colorée d'un jaune pâle, légèrement brun, plus foncé vers le milieu, la partie inférieure étant blanchâtre. Les antennes sont jaunes brun blanchâtre. Le thorax, dans la région dorsale et sur les côtés, est coloré en brun foncé avec des poils épais, blanc jaunâtre. Chez certains exemplaires, on remarque au milieu du thorax une bande transversale avec des poils légèrement colorés en brun foncé. Les côtés latéraux du thorax et la partie inférieure sont munis de poils plus sombres. Les pattes sont fortes. Les trochanters des pattes postérieures sont un peu courbés, sans épines. La couleur des pattes est jaune brunâtre pâle, leur région supérieure étant à l'extérieur richement munie de poils. Le premier article des tarses postérieurs est un peu grossi et le second la moitié de la longueur du premier. Les ailes en partie blanchâtres hyalines présentent au milieu une bande transversale grise, et vers l'extrémité une autre bande plus mince.

L'abdomen, un peu allongé en forme de cœur, de la même largeur que le thorax, se termine avec l'armature génitale.

La femelle, 10-12 millimètres. La tête a une coloration un peu différente, elle est d'un gris jaunâtre foncé. Les antennes ont le dernier article grossi. Les poils, sur la partie inférieure de la face, sont légèrement colorés en noir. Le thorax brun foncé est presque noir dans la partie postérieure. Les pattes ont dans la partie supérieure la même forme, mais elles sont pourvues de quelques poils jaune brun. Le premier article tarsien des pattes postérieures est épaissi, et le second a la moitié de la longueur du premier article. L'abdomen plus allongé est entièrement coloré en brun rouge noirâtre et se termine par un court oviscapte. Sur la partie ventrale, il est complètement noir.

On ne remarque pas de grandes variations de couleur et de taille. Quelques individus mâles sont beaucoup plus couverts de poils jaune blanchâtre.

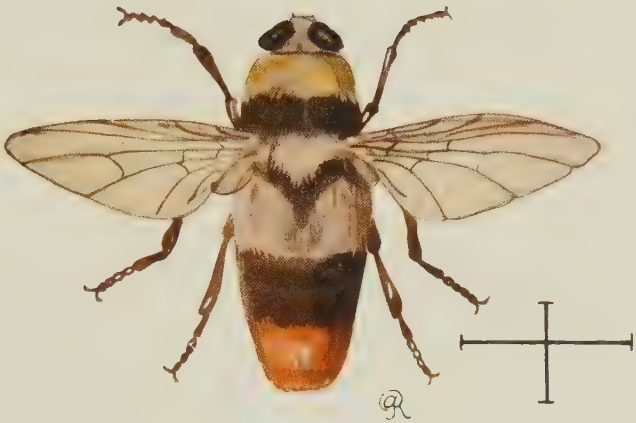


Fig. 5. — Gastrophylus hœmorhoidalis L ♂

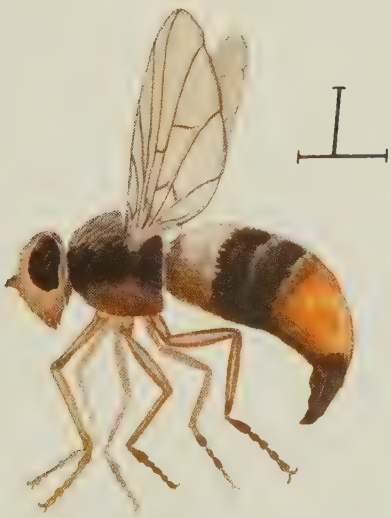


Fig. 6. — Gastrophylus hœmorhoidalis L ♀

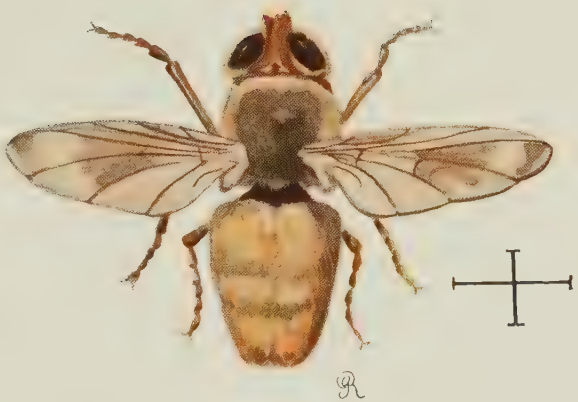


Fig. 7. — Gastrophylus inermis Brauer ♂

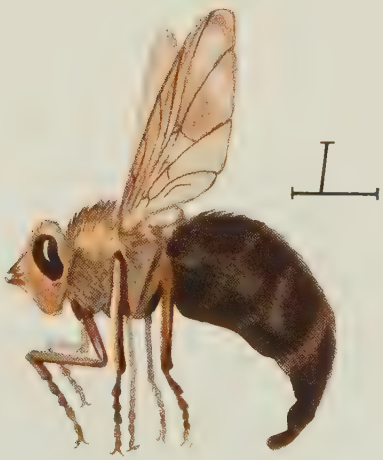


Fig. 8. — Gastrophylus inermis Brauer ♀

***Gastrophylus nasalis* Clark** (fig. 9 et 10).

Le mâle, 15-16 millimètres. La tête, de la même largeur que le thorax, est couvert en haut de poils noirâtres mêlés d'autres poils jaune d'or. La partie inférieure de la face présente des poils jaune d'or. La partie postérieure de la tête est munie de poils brun noirâtre ou noirs. Les antennes sont jaune brun et leur dernier article est plus épaissi, ayant à peu près la forme d'une lentille. L'extrémité de l'antenne est fine et d'une couleur plus foncée.

Le thorax également poilu présente une coloration jaune d'or avec des touffes blanchâtres brillantes. Les poils sur les côtés du thorax sont noirâtres. Sur la face inférieure, le thorax est noir foncé. Les pattes délicates et pas trop longues ont la partie dorsale colorée en noir grisâtre. Les fémurs sont légèrement colorés en brun et les tarses en brun clair. Les poils sont noir brunâtre ou jaune d'or brillant. Les trochanters ne sont pas armés. Le premier article tarsien des pattes postérieures est cylindrique et trois fois plus long que le deuxième, étant en même temps plus long que tous les trois suivants ensemble. Les ailes sont petites, larges, blanchâtres, transparentes et brillantes.

L'abdomen, légèrement allongé, noir brillant ou gris, a la même largeur que le thorax. Les poils de l'abdomen ont une coloration différente : sur le premier et le second segment, les poils sont blancs; sur le troisième, noirs, et sur les segments suivants, orange.

La femelle, 15-17 millimètres. La tête et le thorax ont une conformation et une coloration semblables à celle du mâle. L'article tarsien postérieur est plus long que le premier, tous les autres ensemble étant quatre fois plus longs que le deuxième.

L'abdomen a une coloration claire. Vers la base, il est muni de poils blanchâtres; vers le milieu, il y a une bande large de poils noirâtres, le reste présentant des poils rares orange, blanc jaunâtre. L'oviscapte est très réveloppé, prolongeant ainsi beaucoup l'abdomen.

Il y a plusieurs variations de caractères parmi les individus appartenant à cette espèce, Ainsi quelques mâles sont bien développés et richement poilus, avec de nombreux poils orange. Chez quelques individus, la coloration de l'abdomen est très variable, la bande moyenne de poils noirs étant souvent absente. Certains autres individus, mâles ou femelles, ont une coloration généra-

lement plus claire, les poils blanc jaunâtre prédominant tant sur la tête et le thorax que sur l'abdomen. Chez quelques exemplaires, la coloration jaune est très faible.

Chez les individus dépourvus de la bande noire, on remarque aussi d'autres caractères morphologiques différents. Ainsi la tête est plus large que le thorax et les ailes présentent une conformation spéciale avec des caractères suffisants pour justifier l'existence d'une variation spécifique de cette espèce.

***Gastrophylus nasalis varietas aureus* n. v. Dinulesco** (fig. 11).

Voici les caractères morphologiques observés sur 5 exemplaires (3 ♂ et 2 ♀). L'espace interoculaire plus large, — l'œil plus volumineux, il comprend trois quarts de la hauteur de la tête ; — sur l'aile, il y a un petit écartement entre les nervures transverses r. m. et m. Les cellules basales sont plus ouvertes. La coloration de l'abdomen est nettement bicolore ; à la base de l'abdomen, il y a une bande de duvet soyeux, blanchâtre, tout le reste de l'abdomen étant couvert d'un duvet rouge orange. Chez les femelles, cette coloration est moins distincte. En outre, l'enveloppe nymphale de ces individus mâles et femelles est quelquefois plus allongée, et la couronne d'épines du 11e segment laisse sur le tergum un espace libre égal au tiers de sa largeur.

OBSERVATIONS SUR LES CONDITIONS BIOLOGIQUES DES GASTROPHILES EN ROUMANIE

LE DÉVELOPPEMENT A L'ÉTAT LARVAIRE

Le tableau I présente la récolte du matériel, par localité et mois, au cours des années 1925, 1927 et 1937. On a examiné d'une part les animaux morts, en observant les larves de l'estomac et de l'intestin, et d'autre part on a poursuivi l'expulsion des larves par les animaux parasités. D'après les dates du prélèvement des larves trouvées dans le tube digestif, on a pu noter les limites de l'état larvaire. Les dates des larves expulsées ont permis d'établir le commencement de l'état nymphal. On a remarqué l'existence des larves dans le trajet du tube digestif pendant presque toute l'année. Dès le mois de mai, on a observé des expulsions de larves, ce qui indique la fin de l'état larvaire. Les expulsions continuent

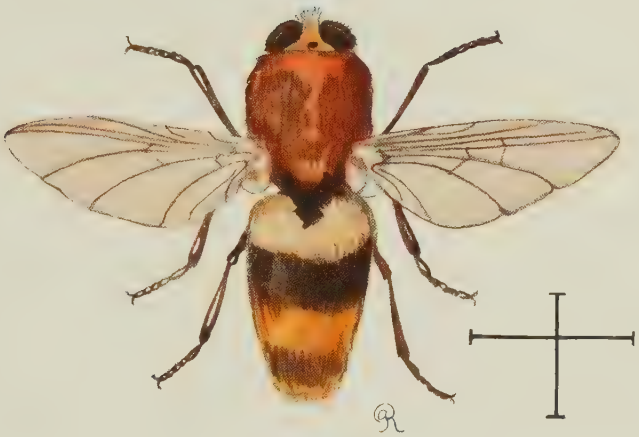


Fig. 9. — Gastrophylus nasalis Clark ♂

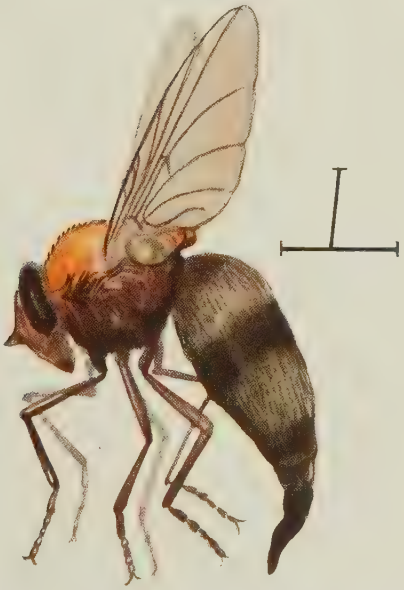


Fig. 10. — Gastrophylus nasalis Clark ♀

Fig. 11. — Gastrophylus nasalis varietas aureus n. v. Dinulesco ♀

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

TABLEAU I

Larves de Gastrophiles récoltées dans différentes localités de Roumanie pendant les années 1925, 1927, 1928 et 1937.

Localités	I	I	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	Cause de la mort des animaux desquels on a récolté les larves parasites
Arad								X					
Balti					X			□					Abcès stomacaux. Indigestion par surcharge.
Barlad					X								Indigestion par surcharge.
Bistrita						X							Id.
Botosani					X		X						Coliques chroniques et néphrites.
Bolgrad (dépt Ismail)	X	X	X		□X	□X	X	X	□X	□X	□	□	Voir tableau II.
Braïla							X	X					
Brasov								X					
Bucuresti					X	X		X					Voir tableau IV.
Calarasi	X	X							X				I cas. Tué. Fracture de la colonne vertébrale.
													II cas. Coliques. Congestion intestinale.
Chisinau			X										Tué. Fracture du tibia droit.
Cluj	X				X		X						I cas. Torsion du grand côlon.
													II cas. Déchirure des valvules tricuspides.
Constanta					X								Coliques. Congestion intestinale.
Craïova							X						Id.
Focsani						X	X						Id.
Jasi						□	X						Tué. Fracture de l'avant-bras gauche.
Jegalia (dépt Ialomita)								X					Id.
Oradea-Mare							X						Id.
Satu-Mare								X					Id.
Targoviste				X									Tué. Fracture de la colonne vertébrale.
Tecuci							X						Id.
Timisoara							□						Coliques vermineuses.
Turnu-Severin					X								Coliques. Déchirure de l'estomac.
Zilistea (dépt Buzau)							X						

□ Larves récoltées des animaux autopsiés.
X Larves expulsées.

jusqu'aux mois de septembre et octobre. Ceci montre que l'état larvaire peut durer jusqu'au commencement du mois d'octobre. La plupart des larves expulsées sont enregistrées en juillet et août.

Le nombre et la distribution des larves par stades au courant de l'année. — Larves stomacales : *Gastrophylus intestinalis* de Geer, *Gastrophylus hæmorhoidalis* L. et *Gastrophylus pecorum* Fbr.

Larves intestinales : *Gastrophylus nasalis* Clark.

TABLEAU II

Nombre de larves et leur distribution dans l'intestin et l'estomac pendant une année sur 15 chevaux. Bolgrad (dépt. Ismail), année 1925.

N° de l'animal	Date		Estomac Nombre de larves par stade			Intestin	Total
	Mois	Jour	II *a*	II *b*	III		
1	I	26	20	126	12	183	341
2	II	3	23	150	16	—	189
3	III	14	26	0	6	2	43
4	»	15	15	6	11	28	60
5	»	20	15	51	12	9	87
6	»	26	80	16	7	36	139
7	IV	12	13	2	4	10	29
8	»	20	21	3	16	5	45
9	V	12	32	130	45	76	283
10	VI	1	28	4	18	6	56
11	VIII	18	16	14	10	18	58
12	X	15	31	7	12	2	52
13	»	26	6	14	9	14	43
14	XI	4	15	15	10	23	64
15	XII	15	25	110	12	150	297

Nombre max. des larves par animal : 341.
» » » stomacales : 207.
» » » intestinales : 183.

Les observations on été poursuivies pendant trois années. En 1925, on a étudié les larves de Gastrophiles sur 15 chevaux; en 1927 et 1928, sur 28 chevaux morts et autopsiés dans les localités Bolgrad (dépt Ismail) et Bucarest (dépt Ilfov).

On a récolté les larves sur les organes, en notant le nombre, le stade et l'organe pour chaque cas étudié. Les résultats sont inscrits dans les tableaux II et III.

Observations. — Le nombre des larves parasites trouvées chez un seul animal atteint 347 au cas n° 1 du tableau II, et 332 au cas n° 5 du tableau III. Le plus grand nombre de larves stoma-

TABLEAU III

Nombre des larves de Gastrophiles par stades trouvés dans l'estomac et l'intestin, chez les chevaux et mulets, pendant les années 1927 et 1928. Bolgrad (dépt. Ismail) et Bucarest (dépt. Ilfov).

N° de l'animal	Date		Animal	Estomac		Intestin		Total	Cause de la mort
				Nombre de larves par stade					
	Mois	Jour		II	III	II	III		
1....	I	4	Cheval.	—	27	—	14	41	Tué. Fracture du fémur gauche.
2....	I	18	»	—	11	—	25	36	Tué. Fracture de la colonne vertébrale.
3....	I	26	»	7	58	—	87	152	Néphrite infectieuse.
4....	I	31	»	15	47	—	32	94	Tué. Fracture de la colonne vertébrale.
5....	II	10	Mulet.	5	173	15	138	332	Congestion pulmonaire.
6....	II	16	Cheval.	1	48	1	1	51	Id.
7....	II	20	Mulet.	—	41	—	101	142	Colique. Déchirure de l'estomac. Gastrophiliase.
8....	II	27	Cheval.	45	58	1	130	254	Congestion pulmonaire.
9....	III	15	»	8	34	31	37	110	Tué. Arthrite ouverte.
10....	V	6	»	—	1	—	18	29	Gastro-entérite.
11....	V	30	»	1	28	—	—	29	Congestion intestinale.
12....	VI	12	»	11	28	—	—	39	Déchirure de l'estomac.
13....	IX	4	»	—	17	—	125	142	Coliques. Congestion intestinale.
14....	IX	5	»	—	16	—	1	17	Coliques. Hémorragie intestinale.
15....	IX	18	»	—	16	—	1	17	
16....	X	1	Mulet.	143	—	14	15	172	Tué. Fracture de la colonne vertébrale.
17....	X	3	Cheval.	1	—	3	—	4	Coliques. Congestion intestinale.
18....	X	4	»	6	1	—	—	7	Péritonite. Perforation intestinale.
19....	X	16	»	5	—	7	—	12	Dévoré par les loups.
20....	X	18	»	16	—	—	26	42	
21....	X	26	Mulet.	7	—	122	—	129	
22....	XI	2	»	18	—	15	26	59	
23....	XI	10	Cheval.	14	3	—	—	17	
24....	XI	20	»	—	58	—	183	241	Congestion intestinale.
25....	XI	26	»	27	—	7	—	34	
26....	XII	4	Mulet.	13	—	15	78	104	
27....	XII	14	Cheval.	—	27	—	14	41	Congestion stomacale. Gastrophiliase.
28....	XII	20	»	—	58	—	183	241	Colique. Déchirure de l'estomac.

cales atteint 207 au cas n° 9 du tableau II, et le plus grand nombre de larves intestinales est 183 au cas n° 24 du même tableau (1).

Le nombre des larves stomacales est plus grand que celui des larves intestinales dans les cas du tableau I ; le nombre des larves intestinales dépasse celui des larves stomacales dans les cas du tableau III. Comme les larves stomacales appartiennent à trois espèces de Gastrophilis : *G. intestinalis*, *G. hæmorhoidalis*

TABLEAU IV

Distribution des larves de Gastrophiles par organes et espèces pendant les mois de mai et juin 1937. Bucarest (dépt. Ilfov).

N° de l'animal	Date		Estomac		Intestin		Rectum	Cause de la mort
	Mois	Jour	*G. hæmorhoidalis*	*G. intestinalis*	*G. pecorum*	*G. nasalis*	*G. inermis*	
1.....	V	26	—	1	2	18	—	Gastro-entérite.
2.....	VI	6	9	18	—	37	16	Tué. Plaies par coupure.
3.....	VI	9	37	28	—	—	7	Péritonite. Gastrophyliase.
4.....	VI	14	62	50	1	21	—	Coliques par congestion.
5.....	VI	15	2	—	6	—	—	Tué. Arthrite ouverte.
6.....	VI	15	—	—	—	—	2	Péricardite.
7.....	VI	22	6	35	—	46	2	Coliques. Congestion intestinale.
8.....	VI	23	15	191	—	141	1	Néphrite toxique.
TOTAL.....			131	323	9	263	28	

et *G. pecorum*, et celles intestinales seulement à une seule espèce, *G. nasalis*, on comprend que le nombre des exemplaires appartenant à cette espèce est toujours plus grand que les exemplaires appartenant aux autres espèces.

En examinant le nombre des larves par espèces récoltées sur 8 chevaux au cours des mois de mai et juin 1937, à Bucarest (tableau IV), nous observons que le plus grand nombre de larves

(1) La cause de la mort a été constatée d'après les actes officiels d'autopsie rédigés par les médecins vétérinaires, qui ont bien voulu nous envoyer le matériel, sauf les cas étudiés dans les localités Bolgrad et Bucarest, où les recherches ont été faites par nous.

appartiennent à l'espèce *Gastrophylus intestinalis* de Geer (323 exemplaires), ensuite *Gastrophylus nasalis* Clark (263 exemplaires) et *Gastrophylus hæmorhoidalis* (131 exemplaires); un nombre plus réduit est atteint par *Gastrophylus inermis* Brauer (28 exemplaires) et *Gastrophylus pecorum* Fbr. (7 exemplaires).

En examinant les larves récoltées à différentes dates au cours d'une année, et leur nombre d'après le stade de développement, on observe une certaine succession des différentes phases larvaires. Ainsi, le plus grand nombre de larves au stade III, tant pour les larves stomacales que pour les larves intestinales, se trouve aux mois d'octobre et novembre. Le plus grand nombre de larves au stade IV se rencontre au mois de mars, pour les deux catégories de larves.

L'absence des larves au stade II des espèces stomacales et intestinales, au cours des mois de novembre et décembre, et le fait qu'on récolte les larves au stade III pendant le mois de novembre (le cas n° 24 du tableau III), montrent que la durée de développement du III[e] stade est beaucoup plus courte que celui du IV[e] stade.

Ces observations nous montrent que, pour les œufs de Gastrophiles déposés à l'automne, les phases larvaires commencent déjà au mois d'octobre, et qu'elles finissent leur évolution vers le mois de mai.

LE DÉVELOPPEMENT LARVAIRE ET L'APPLICATION DU TRAITEMENT LARVICIDE

Les substances larvicides doivent être appliquées au moment qu'il y a la plus grande densité de larves dans l'estomac et l'intestin.

Le temps le plus indiqué pour appliquer le traitement serait celui qui correspond à la fin du III[e] stade, c'est-à-dire aux mois de décembre ou janvier. Pour les cas où le traitement n'a pas pu être appliqué à ce moment, à cause d'un diagnostic retardé, on administrera les substances larvicides au mois de mars, quand il y a la plus grande proportion de larves au III[e] stade. En tout cas, le traitement doit être appliqué beaucoup avant le temps du commencement de l'expulsion des larves, pour empêcher ainsi le développement des adultes et la dispersion des parasites chez d'autres animaux.

LE DÉVELOPPEMENT DU STADE NYMPHAL

Le stade nymphal se passe en dehors de l'organisme de l'hôte. Le commencement du stade nymphal correspond aux limites de l'expulsion des larves. Etant donné que ce stade dure de 15 à 25 jours, la date de l'apparition des insectes adultes doit être située 15-25 jours après l'expulsion des larves.

Après les dates du tableau I, l'apparition des nymphes commence au mois de juin et continue jusqu'au commencement du mois d'octobre.

APPARITION DES GASTROPHILES ADULTES ET LA DURÉE DU VOL

Les observations ont été faites au courant de l'année 1927, dans la localité Bolgrad, (dép[t] Ismail) sur différents chevaux qui ont été tenus hors de l'écurie (voir tableau ci-après).

Date des observations	Espèce et nombre des Gastrophiles adultes observés	Temps
Septembre :		
1[er], 2, 3.....	Apparition du *Gastrophylus intestinalis* de Geer.	Beau.
9, 10, 11	*G. intestinalis* très nombreux. Apparition du *G. nasalis* Clark.	Chaleureux.
12, 13.....	*G. intestinalis* nombreux. Apparition du *G. hæmorhoidalis* L.	Chaleureux.
15, 16.....	*G. intestinalis*, *G. nasalis*, *G. hæmorhoidalis*, petit nombre.	Froid et vent.
25, 26.....	*G. intestinalis* et *G. hæmorhoidalis*, petit nombre	Froid et vent.
28, 29.....	On n'observe pas de Gastrophiles.	Temps froid.
30.....	Même observation.	Temps froid.
Octobre ;		
1[er]-11	»	Froid et vent.
11.....	*G. intestinalis* en grand nombre. On observe des œufs déposés sur des animaux. Plusieurs femelles examinées ont l'abdomen presque vide ; de 6 exemplaires examinés, 2 ont 30-40 œufs, 4 n'ont aucun œuf.	Beau.
12, 13, 14, 15....	Autour des chevaux volent *G. intestinalis* et *G. hæmorhoidalis*.	Beau temps.
16, 17, 18, 19....	Même observation.	Beau temps.
20.....	»	Temps froid et peu de pluie.

Date des observations	Espèce et nombre des Gastrophiles adultes observés	Temps
Octobre :		
21	Autour des chevaux volent *G. intestinalis* et *G. hæmorhoidalis*.	Temps froid et peu de pluie.
22	Même observation.	»
23	Rares exemplaires de *G. intestinalis*.	Temps chaud, sans vent.
24	Même observation.	Temps chaud, sans vent.
25-28	On n'observe pas de Gastrophiles.	Temps froid et vent.
29	On observe 2 exemplaires de *G. intestinalis*. Ils pondent des œufs.	Temps froid sans vent.
30, 31	On observe rien.	Temps froid et vent.
Novembre :		
1er	*G. intestinalis*, petit nombre.	Sans vent.
2	On observe des *G. intestinalis*, rares exemplaires.	»
3, 4	Même observation.	»
5	Un exemplaire femelle de *G. intestinalis* pond des œufs sur les poils des chevaux.	»
7	On n'observe pas de Gastrophiles.	Temps défavorable.
8-10-20	Depuis le 8 novembre, on n'observe plus de Gastrophiles.	»

Depuis le 26 août jusqu'au 10 novembre, on a tenu journellement, depuis 7 heures du matin jusqu'à 7-8 heures du soir, 2-3 chevaux liés dans la cour de l'infirmerie du 22e régiment d'artillerie.

Les observations ont cessé au 20 novembre.

Observations. — Les premiers œufs déposés sur les poils des chevaux ont été observés au 26 août, ce qui montre que les premiers adultes sont apparus vers les 25-26 août. Ils ont continué à apparaître jusqu'au 5 novembre. Les Gastrophiles volent et pondent des œufs seulement dans les jours chauds et sans vent. Pour pondre les œufs, les Gastrophiles poursuivent avec insistance les animaux et leur attaque est différente d'une espèce à l'autre. Les observations nous montrent quelques précisions sur la manière de pondre: ainsi, *G. intestinalis*, *G. pecorum* et *G. nasalis* s'approchent des animaux surtout quand ils

sont attachés dans les parcs, dans les marchés ou même dans les écuries lumineuses ; *G. hæmorhoidalis* poursuit les animaux au pâturage ou en marche, et comme ils déposent les œufs sur les lèvres et autour de la bouche, ils troublent beaucoup les animaux. On n'a pas pu faire d'observations en ce sens sur les Gastrophiles de l'espèce *G. inermis*.

LONGÉVITÉ DES GASTROPHILES ADULTES

Les insectes adultes ont été gardés dans des bocaux de verre dans lesquels on a mis quelques morceaux de papier buvard.

Espèce des Gastrophiles adultes	Nombre	Date de l'éclosion	Date de la mort	Longévité (jours)
G. intestinalis.	2 ex.	17 sept.	19 sept.	2
G. hæmorhoidalis.....	2 »	18 »	20 »	2
G. nasalis.....	1 »	18 »	19 »	1
G. hæmorhoidalis.....	2 »	24 »	26 »	2
G. intestinalis.....	3 »	27 »	28 »	2
»	2 »	27 »	29 »	3
»	1 »	27 »	28 »	1
G. hæmorhoidalis.....	2 »	28 »	— »	1
»	4 »	28 »	29 »	2
»	3 »	28 »	30 »	3
G. nasalis.....	1 »	29 »	— »	1
»	4 »	29 »	30 »	2
»	1 »	29 »	1er oct.	3

Observations. — En moyenne, la vie des adultes dure d'un à trois jours. On ne remarque point de variation sur la longévité d'une espèce à l'autre.

OBSERVATIONS SUR LE DÉVELOPPEMENT DES INSECTES ADULTES ET L'APPLICATION DES MOYENS DE COMBAT

Les observations sur le temps de l'apparition des adultes et sur la ponte des œufs servent à établir le moment où doit commencer la lutte contre ces insectes. Les Gastrophiles à l'état d'adulte peuvent être combattus soit en préservant les animaux de leur attaque, soit en détruisant les œufs ou les larves écloses avant qu'elles pénètrent dans le trajet du tube digestif.

Pour préserver les animaux et que les Gastrophiles ne puissent pondre les œufs sur leurs corps, on a recommandé certaines enveloppes protectrices des régions où les œufs sont déposés, —

autour de la bouche, les joues, sous le menton, les côtes du corps ou la partie intérieure des jambes. Nos observations concernant l'apparition des insectes adultes montrent que ces enveloppes devraient être mises à partir du mois de juillet et gardées jusqu'à la fin du mois d'octobre. D'après les observations, concernant le développement larvaire, nous pouvons ajouter qu'on peut défendre les animaux des Gastrophiles en détruisant les larves avant leur pénétration dans l'organisme, par la provocation d'une éclosion prématurée.

Dans une publication antérieure (1932) concernant les résultats de nos recherches expérimentales sur l'éclosion et le mode de pénétration des larves de *G. intestinalis* dans l'organisme de l'hôte, nous avons montré que les larves, malgré qu'elles finissent leur développement embryonnaire en 5-6 jours, en devenant infestantes, ne quittent tout de même pas la coque de l'œuf avant que l'animal ne provoque leur éclosion par le frottement avec le museau. Si l'animal n'intervient pas, les larves peuvent attendre ainsi jusqu'à 30 jours. Nous avons montré qu'on peut provoquer artificiellement l'éclosion en frottant les régions où sont déposés les œufs avec une brosse trempée dans l'eau tiède. Dans ce cas, les œufs sont désoperculés et les larves sont éloignées avec cette brosse.

Connaissant la période quand les adultes pondent des œufs et sachant que le développement embryonnaire s'accomplit dans 5-6 jours, on peut recommander l'application de ce traitement une fois tous les 5 jours, tout le temps à partir du 1er juillet jusqu'à la fin du mois d'octobre. Le traitement est assez simple: le frottement des régions où sont déposés les œufs, avec cette brosse mouillée à l'eau chande, peut être exécuté à la fois avec les soins habituels qu'on donne aux animaux.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Ce travail représente une étude systématique et biologique des Gastrophiles en Roumanie.

Nous signalons en Roumanie l'existence des espèces suivantes: *Gastrophylus intestinalis* de Geer, *Gastrophylus hæmorhoidalis* L., *Gastrophylus pecorum* Fbr., *Gastrophylus nasalis* Clark et *Gastrophylus inermis* Brauer, ainsi qu'une nouvelle variété, *Gastrophylus nasalis var. aureus* n. var. Dinulesco. Nous donnons la description morphologique de ces espèces en insistant sur les carac-

tères soumis aux variations, spécialement la taille et la coloration extérieure.

Toutes les espèces sont parasites sur les chevaux et les mulets. Quelques espèces parasitent dans l'estomac (larves stomacales): *G. intestinalis, G. pecorum* et *G. hæmorhoidalis* ; d'autres dans l'intestin ou rectum (larves intestinales) : *G. inermis, G. nasalis* et *G. nasalis var. aureus*.

La proportion numérique varie d'une espèce à l'autre. Ainsi, l'espèce *G. nasalis* dépasse comme nombre les autres espèces. Parmi les espèces avec des larves stomacales, *G. intestinalis* présente le plus grand nombre de larves.

A la suite des observations sur la biologie, nous établissons les périodes au cours de l'année du développement des différents stades larvaires, nymphal et adulte. La succession des trois stades larvaires se fait de la manière suivante : le I^{er} stade, qui débute au commencement de l'été, finit au mois d'août. La limite des périodes corerspondant aux stades II et III est située dans les mois d'octobre et de novembre.

La période correspondant au III^{e} stade finit au mois de mai en même temps que le développement larvaire.

Pour les Gastrophiles qui pondent les œufs en automne, le développement larvaire peut commencer plus tard. En ce cas, la période dans laquelle a lieu le développement larvaire peut commencer au mois de novembre et finit au mois de septembre de l'année suivante. D'après les dates enregistrées sur les larves expulsées et sur la ponte des œufs, nous concluons que les insectes adultes commencent leur apparition au mois de juillet et finissent au mois d'octobre.

La période correspondant au stade nymphal précède la période de l'apparition des adultes avec 15-25 jours.

La longévité des Gastrophiles adultes est de un à trois jours, et leur attaque pour la ponte des œufs se fait d'une manière différente d'une espèce à l'autre.

Les dates sur le développement des différentes phases servent à établir le temps d'application des moyens de combat, par des traitements qui détruisent les larves avant ou après les pénétrations dans les organes internes.

BIBLIOGRAPHIE

DINULESCO (G.) : « Description de la larve au premier stade du *Gastrophylus inermis* (Brauer). La *myiase gastrophilienne* des joues chez le cheval. » (*Annales de Parasitologie hum. et comp.*, Paris, t. VII, 1929.)

ID. : Larves d'œstridés produisant des tumeurs duodénales chez les chevaux en Espagne. » (*Annales de Parasitologie hum. et comp.*, Paris, t. IX, 1931.)

ID. : « Rercherches sur la biologie des Gastrophiles : anatomie, physiologie, cycle évolutif. » (*Annales des Sciences naturelles, Zoologie*, Paris, t. XV, 1932.)

DINULESCO (G.) et VALILESCO (C.) : « Etude anatomo-pathologique des tumeurs duodénales chez le cheval produites par les larves de *Gastrophylus meridionalis* (Pillers et Ewans). » (*Archiva Veterinară*, Bucaresti, n° 6, 1937.)

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ACTION DU DINITROPHÉNOL 2-4 SUR LE SANG DU LAPIN

par

Silvia IROFTI

(Travail de l'Institut Cantacuzino)

Les premières recherches sur l'action du dinitrophénol 2-4 ont été entreprises en France par Magne et ses collaborateurs [24], pendant la guerre de 1915, à la suite des cas d'intoxication parmi les manipulateurs de cette substance qu'on fabriquait en grande quantité pour les fabriques de munitions de l'armée.

Les résultats des expériences de laboratoire de Magne et ses collaborateurs, qui représentent quinze ans de travail sur le dinitrophénol 2-4, ont été publiés dans les *Annales de Physiologie*. Nous nous permettons de les résumer brièvement :

Le dinitrophénol 2-4 est un produit chimique très toxique: administré au chien à la dose de 0,10 gr. par kilogramme, il produit instantanément une polypnée intense accompagnée d'une hyperthermie dépassant de 4° à 5° la normale, phénomènes suivis de la mort de l'animal en 5-30 minutes. L'administration d'une dose 10 fois moindre produit une légère hyperthermie et une polypnée de courte durée, accompagnées d'une augmentation du métabolisme basal. Chez le lapin et le pigeon, la dose mortelle administrée soit *per os*, soit par voie parentérale, tue l'animal avec les mêmes symptômes : hyperthermie, polypnée, convulsions généralisées. L'administration de petites doses répétées détermine aussi la mort de l'animal, à des intervalles de temps variables, par des lésions rénales et hépatiques. Dans leurs recherches, A. Mayer et ses collaborateurs ont établi le mécanisme biologique intime, de l'action du « dinitrophénol 2-4 ». Cette action serait d'origine tissulaire, périphérique. L'hyperthermie serait due à une augmentation des oxydations tissulaires. En 1933, Cutting, Merthens et Tainter [7] reprennent l'étude de l'action du dinitrophénol 2-4; leurs résultats sont les suivants : son action est la même, aussi

bien lorsqu'il est expérimenté sur les animaux de laboratoire, que lorsqu'il est administré à l'homme sain. Administré à l'homme en dose de 3-5 milligrammes par kilogramme, il provoque une augmentation du métabolisme basal (20-40 %) sans modifications notables de la température du pouls ou de la respiration. Les doses dépassant 10 milligrammes par kilogramme provoquent de l'hyperthermie et l'accélération du pouls et de la respiration. Grâce à son action sur le métabolisme basal, ces auteurs recommandent son administration dans le traitement de l'obésité avec insuffisance thyroïdienne. A la suite de leurs recherches, des applications cliniques ont été effectuées en Amérique, dont les résultats ont été publiés par Tainter, Cutting et Stockton [31] ; ensuite par Anderson, Reed et Emerson [2], et dernièrement par Massermann et Goldsmith [23]. L'introduction du dinitrophénol 2-4 en thérapeutique fait paraître une série de communications sur des cas d'intoxication secondaire, après l'administration de ce médicament.

Ainsi H. Jackson et A. Duval [19], H. Anderson, Reed et Emerson [2] citent des cas d'intoxication avec éruptions urticaires et des œdèmes généralisés. N.-K. Lazar, Allen et Benson [1] signalent des cataractes survenues après l'administration de ce médicament. Nous notons également les nombreux cas d'agranulocytose signalés par S. Silver [29], Davidson et Shapiro [11], Butt et Hickey [16], Immermann (S.) et Immermann (C.) [18], Goldman et Haber [15].

Nous avons entrepris une série d'expériences sur le lapin pour étudier l'action de cette substance sur le sang périphérique et sur les organes hématopoïétiques. Les voies d'introduction du médicament ont été les suivantes : gastrique, sous-cutanée, intrapéritonéale ou intraveineuse. Nos expériences portent sur 48 lapins, divisés en 6 groupes. Chaque groupe représente une série d'expériences faites sur 6 à 10 animaux auxquels on administrait soit une dose constante, soit des doses progressives, à des intervalles de 48 heures. Les lapins étaient examinés chaque jour : on notait leur température avant et après l'administration du médicament, leurs poids, les symptômes cliniques après l'inoculation, la dyspnée, etc. L'examen du sang (dosage de l'hémoglobine, numération des globules rouges et blancs, formule leucocytaire) a été fait au début à des intervalles de 7 jours, ensuite de 10 jours. Le sang était prélevé par ponction de la veine marginale de l'oreille. Nous avons adopté la formule du liquide Marcano, pour la dilution du sang, quand il s'agissait de compter les

globules rouges et la solution ordinaire d'acide acétique, — bleu de méthylène pour les globules blancs. Les frottis de sang ont été colorés par la méthode de May-Grünwald-Giemsa. Pour le dosage de l'hémoglobine, nous nous sommes servis de l'appareil de Sahli sans correction.

Pour l'examen histologique des organes, prélevés à l'autopsie, nous avons adopté les techniques suivantes : fixation dans du formol à 15 %, dans le liquide de Bouin, dans le liquide de Zenker ; la coloration des coupes inclusionnées à la paraffine a été faite par la méthode à l'hématoxiline-éosine, la méthode de van Gieson, par le Giemsa et l'hématoxiline phosphotungstique.

Ces recherches ont été faites avec 3 préparations différentes de dinitrophénol 2-4 provenant des maisons « Poulenc », « Merck » et « Riedel et Haën ». Les dilutions ont été faites à partir d'une solution mère contenant 2 grammes de dinitrophénol pour 100 centimètres cubes d'eau alcalinisée par le bicarbonate de soude à 1 %.

Le dinitrophénol 2-4 est un phénol possédant deux groupes NO^2 situés dans les positions méta et para, dont la formule chimique est la suivante : C6 H3 $(NO2)^2CH$. On l'obtient, soit en chauffant le phénol à 130°-140°, en présence d'un mélange sulfonitrique, soit en traitant le chloronitrobenzène par la soude. Le dinitrophénol 2-4, pur, est un corps cristallisé, de couleur jaune, d'une grande activité colorante, très soluble dans l'alcool, le benzol, l'éther, le chloroforme ; il est peu soluble dans l'eau distillée, on peut augmenter sa solubilité dans l'eau jusqu'à 3 %, en lui ajoutant du bicarbonate de sodium, en quantité égale à la moitié de son poids.

Nos expériences nous ont permis de constater que ce composé chimique est très toxique. L'intoxication aiguë, provoquée par l'administration d'une dose mortelle de dinitrophénol 2-4 par voie gastrique ou parentérale, provoque une hausse rapide de la température, de la polypnée et des convulsions généralisées ; la mort survient immédiatement après l'injection intraveineuse, dans quelques minutes après une injection sous-cutanée ou intrapéritonéale, et dans 20 ou 30 minutes après l'ingestion de la substance.

L'intoxication lente, chronique, provoquée par administration, toutes les 48 heures, de petites doses constantes ou progressivement croissantes, est caractérisée par une polypnée légère et une hyperthermie passagère, symptômes qui apparaissent après chaque injection et disparaissent rapidement, en laissant l'ani-

mal dans un état de torpeur permanente; les animaux meurent, en état de torpeur, sans présenter les symptômes caractéristiques d'intoxication aiguë. Dans l'intoxication chronique, la survie a été de 9 à 90 jours pour les animaux inoculés par voie sous-cutanée ; de 42-90 jours pour ceux inoculés par voie intrapéritonéale, 32-96 jours pour ceux inoculés par voie intraveineuse et 51-90 jours pour ceux auxquels le toxique a été administré par voie gastrique.

La quantité de médicament supportée par l'organisme animal varie comme il suit : *0,08-0,43 gr.* par kilogramme, par voie sous-cutanée; *0,10-1,24 gr.* par kilogramme, par voie péritonéale; *0,30-0,90 gr.* par kilogramme, par voie intraveineuse, et *0,74-1,35 gr.* par kilogramme, par voie gastrique.

Il nous a semblé qu'il existe une véritable sensibilité individuelle pour le dinitrophénol 2-4; ainsi, dans une même série d'expériences, nous avons eu des lapins qui ont succombé après l'administration de petites doses (0,15 gr. par kilogramme), tandis que d'autres ont résisté à des doses très élevées (1,24 gr. par kilogramme). En ce qui concerne le poids des animaux, les variations sont inconstantes ; il y a des lapins dont le poids augmente, d'autres dont le poids diminue au cours de la même série d'expériences ; les oscillations du poids se chiffrent entre 100-300 grammes.

L'examen du sang peut être résumé comme il suit : il n'y a pas de modifications de la quantité d'hémoglobine, pas plus que du nombre des globules rouges; le nombre des globules blancs varie dans des limites normales; on n'observe pas de variations de la formule leucocytaire dans le sens d'une diminution du nombre des granulocytes.

L'examen morphologique du sang nous a montré, chez la plupart des animaux, l'apparition de granulations toxiques, basophiles dans le protoplasme des leucocytes pseudo-éosinophiles, ainsi que des altérations du noyau (des zones vacuolaires et une certaine tendance à la pycnose). L'intensité des altérations morphologiques et le moment de leur apparition, ne sont pas en rapport avec la quantité et la voie d'administration du toxique.

L'examen histo-pathologique des organes nous a montré des lésions congestives et des zones d'œdème dans les poumons, le foie, la rate et de la moelle osseuse. Nous n'avons pas observé de l'aplasie, ou de l'hypoplasie de la moelle osseuse.

Tous les animaux présentent une congestion intense des reins, des foyers de glomérulo-néphrite : les glomérules sont inégaux,

augmentés de volume, troubles, l'espace inter-capsulo-glomérulaire est rempli d'exsudat; dans les tubes urinaires, on observe des lésions de néphrose diffuse, surtout dans les tubuli contorti, le protoplasme des cellules est granuleux, les noyaux sont altérés, des masses cellulaires bouchent le lumen des voies urinaires.

Nous reproduisons ci-dessous deux expériences:

Première expérience. — Poids initial : 1.770 grammes. Poids final : 1.720 grammes. Dose totale de dinitrophénol administré par voie intrapéritonéale : 2,13 gr. Dose par kilogramme : 1,24 gr. Nombre des injections : 33. Durée de l'expérience : 66 jours.

Observations cliniques. — Le lapin présente, après chaque injection, de la polypnée et de l'hyperthermie. La fièvre monte progressivement de 2° à 3° au-dessus de la normale, elle redescend au bout de 4 à 5 heures. L'animal meurt 12 heures après la dernière injection, en état de torpeur, avec hyperthermie, polypnée et hypotonie généralisée. A l'examen histopathologique des organes, nous avons observé des lésions congestives et des noyaux d'œdème dans les poumons, la congestion du foie sans lésions de la cellule hépatique et un abondant pigment jaune intracellulaire. Dans la rate, les sinus sont dilatés, pleins d'hématies, de granulocytes, de myélocytes, de

EXAMEN DU SANG

Date de l'examen	27-IX	7-X	17-X	27-X	7-XI	17-XI	26-XI
Hémoglobine (%)	90	90	95	90	90	95	95
Globules rouges	6.520.000	5.300.000	6.320.000	5.500.000	6.000.000	6.200.000	6.800.000
Globules blancs	10.000	6.900	10.000	7.800	7.600	7.000	6.700
Formule leucocytaire. Pseudo-éosinophiles	52	45	41	47	41,5	46,5	39,5
Formule leucocytaire. Eosinophiles	8	4	—	—	0,5	—	1
Formule leucocytaire. Basophiles	7	5	1	2	2,5	2	3
Formule leucocytaire. Lymphocytes	28	40	48	48	51	47,5	48,5
Formule leucocytaire. Monocytes	5	6	9,5	3	4	6	7
Formule leucocytaire. Cellules de Türck	—	—	0,5	—	0,5	0,5	1

EXAMEN DU SANG

Date de l'examen.....		27-IX	7-X	17-X	27-X	7-XI	17-XI	27-XI	7-XII	17-XII	28-XII
Hémoglobine (%).....		80	80	86	90	90	95	98	89	90	85
Globules rouges		4.850.000	4 560 000	5 560.000	5 580 000	5.880.000	6.000.000	5.800.000	6.000.000	6.000.000	5.640.000
Globules blancs.		10 300	8.300	7.400	13 000	11.000	8.800	10.900	8.500	8.800	10.000
Formule leucocytaire	Pseudo-éosinophiles	30	34	41	41	48,5	31,5	39,5	39	50	43,5
	Eosinophiles.....	—	3,5	2	1	1,5	1,5	1	0,5	—	0,5
	Basophiles.....	2	0,5	1	3	2,5	3	2	0,5	0,5	1
	Lymphocytes.....	60	59	55	52	44	60,5	53,5	53,5	46	49
	Monocytes.....	7	3	2	3	3,5	3,5	4	6,5	3	6
	Cellules de Türck..	1	—	—	—	—	—	—	—	0,5	—

polynucléaires adultes et de pigment jaune. Dans la moelle osseuse prédominent les éléments de la série granulée, des myélocytes et des polynucléaires adultes, fréquents mégacaryocytes, des hématies et du pigment jaune intracellulaire en abondance. Les reins sont congestionnés; on observe des foyers de glomérulo-néphrite et des lésions de néphrose dans les tubes urinaires, avec prédominance des lésions dans les tubuli contorti.

Deuxième expérience. — Poids initial : 2.250 grammes. Poids final, 2.270 grammes. Dose initiale administrée par voie gastrique : 0,01 par kilogramme. Dose finale : 0,05 gr. par kilogramme. Dose totale de dinitrophénol : 2,93 gr. Dose totale par kilogramme : 1,33 gr. Durée de l'expérience : 90 jours.

Observations cliniques. — 26-30 minutes après l'administration du médicament, l'animal présente de la polypnée, une ascension progressive de la température jusqu'à 2°-3° au-dessus de la normale ; rétablissement des valeurs initiales au bout de 4-5 heures. L'animal est mort 2 heures après l'administration du dinitrophénol en état de torpeur, avec de l'hyperthermie, de la polypnée et de l'hypotonie généralisée.

A l'examen histo-pathologique des organes, nous avons observé des lésions congestives et des noyaux d'œdème pulmonaire dis-

séminés, congestion du foie, sans lésions de la cellule hépatique, abondant pigment jaune intracellulaire. Dans la rate, les sinus sont dilatés, pleins d'hématies et de granulocytes, de myélocytes, de polynucléaires adultes et de pigment jaune. Dans la moelle osseuse prédominent les éléments de la série granulée, myélocytes et polynucléaires adultes, fréquents mégacaryocytes et hématies, abondant pigment jaune intracellulaire. Congestion des reins, présence de foyers de glomérulo-néphrite et lésions de néphrose dans les tubes urinaires, avec prédominance des lésions dans les tubuli contorti.

Les résultats de toutes nos expériences sont concordants sur les faits suivants : nous n'avons pas obtenu des modifications notables du sang circulant, ni les lésions pathologiques des organes hématopoïétiques, à part peut-être une légère irritation formative des leucocytes granulocytaires avec apparition de formes jeunes dans la rate. Le lapin se montre réfractaire à la fixation de ce toxique sur le système hémo-leucocytaire et hématopoïétique, ce qui ne veut pas dire que d'autres animaux ne pourraient pas l'être.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par Tainter et ses collaborateurs [30] dans une série d'expériences sur des chiens. Mais de nombreux auteurs ont publié des cas d'angines agranulocytaires après l'administration de divers médicaments à base de dinitrophénol 2-4. Dans tous les cas cités, les troubles secondaires apparaissent soit après l'ingestion d'une dose énorme, soit tardivement après de petites doses administrées pendant une longue période de temps.

Dans nos essais, l'observation prolongée des animaux en expérience ne fut pas réalisable, car tous succombaient à des intervalles de temps variables, à cause des lésions rénales. Le plus grand nombre de lésions toxiques secondaires à la suite de l'administration de ce médicament a été observé en Amérique, ce qui fait penser que cette toxicité pourrait être due à une impureté du produit chimique (Pouchet [26]). Dernièrement, on vient de réaliser en France une combinaison stable de dinitrophénol 2-4 avec la méthylglyoxalidine ou lysidine. Ce produit, d'après Pouchet, diminuerait la toxicité de la fonction phénolique du dinitrophénol 2-4, et la fixation du groupe méthylglyoxalidique favoriserait l'élimination des déchets toxiques. Il ne nous a pas été possible d'expérimenter comparativement ce produit.

Le fait qu'on n'observe pas de lésions dans le sang circulant

ne prouve pas que le dinitrophénol n'a aucune action sur les organes hématopoïétiques, qui pourraient bien être atteints avant que des modifications du sang périphérique apparaissent. Ainsi Climenko [5], en injectant de l'acide nucléinique aux lapins sains, observe une leucocytose secondaire accentuée à la suite de ce traitement. Si on administre du pyramidon aux lapins et ensuite l'acide nucléinique, la leucocytose n'apparaît plus.

On s'est demandé si, dans les cas d'intoxication chronique par le dinitrophénol, la capacité de réaction des organes hématopoïétiques au cours des différentes infections ne serait pas diminuée, et dès lors l'infection, au lieu de provoquer une leucocytose, eût comme résultat une aggravation des troubles fonctionnels des organes hématopoïétiques. Des observations cliniques d'agranulocytose, à la suite de l'administration du dinitrophénol, semblent confirmer ce point de vue : l'agranulocytose est accompagnée, dans tous les cas publiés par différents auteurs, d'une infection amygdalienne.

Nous nous sommes donc proposé, dans une nouvelle série d'expériences, d'étudier le rôle du dinitrophénol 2-4 dans les infections expérimentales à streptocoques. Des lapins ont été inoculés par voie intrapleurale avec 0,5 cc. d'une culture âgée de 24 heures de streptocoque non hémolytique, dans du bouillon glucosé. La souche de streptocoques dont nous nous sommes servis a été isolée d'un exsudat amygdalien (amygdalite pultacée). Nous avons fait l'examen de l'exsudat pleural, ainsi que du sang périphérique. Lorsque la réaction pleurale était constituée, nous avons inoculé aux lapins, journellement, par voie intrapéritonéale, des doses sous-mortelles (0,03 gr. par kilogramme) de dinitrophénol, jusqu'à la mort de l'animal. Dans une autre série d'expériences, nous avons inoculé dans le péritoine des lapins, journellement, une quantité de 0,03 gr. par kilogramme de dinitrophénol, pendant 8 à 10 jours; les doses qu'ils ont reçues dépassaient 4 à 5 fois les doses mortelles par kilogramme (0,24-0,28 gr.). Ensuite les lapins recevaient par injection intrapleurale 0,5 cc. d'une culture de streptocoque en bouillon glucosé.

Nous avons institué deux séries de témoins : la première série (3 lapins) a reçu du dinitrophénol 2-4 en injections intrapéritonéales, en dose journalière de 0,03 gr. par kilogramme jusqu'à la mort; la deuxième série (3 lapins) reçoit 0,5 cc. d'une culture de streptocoque en bouillon glucosé, en injection intrapleurale. Les examens du liquide pleural et du sang ont été

pratiqués à 48 heures d'intervalle, les premiers jours qui suivirent l'expérience, ensuite tous les cinq jours.

Cette expérience a durée 40 jours.

Première expérience. — Poids initial : 1.870 grammes. Poids final : 1.800 grammes.

11 juillet : On administre, par voie intrapleurale, 0,5 cc. d'une culture de streptocoque.

13 juillet : Ponction pleurale : on extrait 0,5 cc. de liquide séreux trouble. A l'examen microscopique des frottis, on voit de nombreux polynucléaires intacts ou altérés, de nombreux streptocoques.

13 juillet : On administre journellement, par voie intrapéritonéale, 0,03 gr. de dinitrophénol par kilogramme.

Dose totale administrée : 0,52 gr. Dose totale par kilogramme : 0,28 gr. Durée de l'expérience : 18 jours.

Observations cliniques. — Immédiatement après l'injection de streptocoque, l'animal présente une polypnée accentuée. Après 24 heures, l'animal est triste, dyspnéique, la fièvre (39°7) revient à la normale après 10 jours. Après chaque injection de dinitrophénol, l'animal présente de la polypnée et de l'hyperthermie. Il meurt 10 minutes après la dernière injection avec polypnée et hyperthermie.

L'examen anatomo-pathologique montre une plèvre épaissie; dans le poumon, vaso-dilatation, exsu-

EXAMEN DU SANG

Date de l'examen	10-VII	13-VII	16-VII	18-VII	20-VII	22-VII	27-VII
Hémoglobine (%)	93	85	76	76	74	80	78
Globules rouges	6.520.000	5.400.000	4.500.000	4.900.000	4.900.000	5.440.000	5.500.000
Globules blancs	10.200	14.500	14.100	13.200	13.800	11.800	8.800
Formule leucocytaire. Pseudo-éosinophiles	47	69,5	53	49	61	77,5	43
Eosinophiles	3	0,5	2,5	—	—	3	1
Basophiles	2	1	3,5	1	—	0,5	5,5
Lymphocytes	41	20,5	31	46	32	12,5	35,5
Monocytes	7	8	9,5	4	7	7,5	1,5
Cellules de Türck	—	0,5	—	—	—	—	—

EXAMEN DU SANG

Date de l'examen	1er-VIII	4-VIII	9-VIII	11-VIII	13-VIII	15-VIII	20-VIII	25-VIII	1er-IX	5-IX
Hémoglobine (%)	83	80	73	70	68	60	60	70	70	80
Globules rouges	6.680.000	6.480.000	5.760.000	5.600.000	5.000.000	4.500.000	4.600.000	5.600.000	6.400.000	6.720.000
Globules blancs	7.300	8.200	9.500	10.600	16.000	13.500	13.000	12.460	10.160	7.500
Formule leucocyt. Pseudo-éosinophiles	61	44	57	63	62	54	52	60	44	44
Eosinophiles	2,5	—	1	1	2	—	2	1	2	1
Basophiles	3,5	3	2	1	4	3	3	1	5	4
Lymphocytes	25,5	50	38	30	26	37	38	38	44	46
Monocytes	7,5	3	2	5	6	5	4	—	5	5
Cellules de Türck	—	—	—	—	—	—	1	1	—	—

dat intra et extra-alvéolaire avec de nombreux polynucléaires. Dans le foie, vaso-dilatation et infiltrations leucocytaires périvasculaires; dans la moelle osseuse et la rate, vaso-dilatation et augmentation du taux des granulocytes. Dans le rein, vaso-dilatation, infiltrations leucocytaires, périvasculaires, des foyers de glomérulo-néphrite et des lésions de néphrose dans les tubes urinaires.

Deuxième expérience. — Poids initial : 1.520 grammes. On administre journellement 0,03 gr. de dinitrophénol par kilogramme dans le péritoine, pendant 8 jours. Dose totale administrée par kilogramme: 0,21 gr.

Après 8 jours (9 août), on inocule, par injection intrapleurale, 0,5 cc. de culture de streptocoque.

11 août : Ponction pleurale : on extrait 1 centimètre cube d'exsudat pleural séreux, trouble. A l'examen microscopique des frottis, on voit de nombreux polynucléaires intacts et altérés, streptocoques. L'expérience a duré 34 jours. L'animal survit.

Troisième expérience (lapin témoin auquel on a administré le dinitrophénol intrapéritonéal). — Poids initial : 1.500 gr. Poids final : 1.480 grammes. Dose journalière de dinitrophénol : 0,03 gr. par kilogramme. Dose totale : 0,41 gr. Dose totale par kilogramme : 0,27 gr. Durée de l'expérience : 12 jours.

Observations. — L'animal présente, après chaque injection, polypnée et hyperthermie qui durent 4-5 heures. Le lapin meurt 15′ après la dernière injection, avec des convulsions généralisées. A l'examen histo-pathologique des organes, on trouve des lésions congestives dans le foie et la rate. Dans le poumon, congestion et des foyers d'œdème. Dans le rein, des foyers de glomérulonéphrite, et des lésions diffuses de néphrose dans les tubes urinaires.

EXAMEN DU SANG

Date de l'examen	8-VII	13-VII	13-VII
Hémoglobine (%)	93	83	80
Globules rouges	6.560.000	6.000.000	5.500.000
Globules blancs	8.000	5.500	5.600
Formule leucocytaire. Pseudo-éosinophiles	56	45	47,5
Formule leucocytaire. Eosinophiles	1	3	2
Formule leucocytaire. Basophiles	—	2	6
Formule leucocytaire. Lymphocytes	39	46	37
Formule leucocytaire. Monocytes	2	4	7
Formule leucocytaire. Cellules de Türck	—	—	—

QUATRIÈME EXPÉRIENCE (lapin témoin auquel on a administré 0,5 cc. de culture de streptocoque intrapleural). — Poids initial : 1.890 grammes.

7 juillet : On inocule, dans la cavité pleurale, 0,5 cc. de culture de streptocoque.

9 juillet : Ponction pleurale : on extrait 0,5 cc. d'exsudat séreux, trouble; à l'examen microscopique des frottis, on trouve de nombreux polynucléaires intacts et altérés, streptocoques.

7 août : Ponction pleurale négative (voir tableau, p. 348).

Dans la première série d'expériences, les lapins ont résisté à l'infection de 8 à 20 jours; dans la deuxième série, deux lapins survivent, le troisième succombe le 11e jour, après l'inoculation du streptocoque. Les témoins au dinitrophénol 2-4 meurent entre 5-12 jours ; ceux qui ont reçu le streptocoque en injection intrapleurale se comportent de la façon suivante : un lapin succombe le 5e jour de la maladie, les deux autres survivent.

Les examens du sang montrent, chez tous les lapins qui ont reçu le streptocoque, associé ou non au dinitrophénol, une anémie marquée: le nombre des globules rouges diminue avec 2.000.000-

EXAMEN DU SANG

Date de l'examen	7-VII	9-VII	11-VII	13-VII	15-VII	20-VII	27-VII	7-VIII
Hémoglobine (%)	91	90	85	78	80	73	65	63
Globules rouges	6.320.000	6.560.000	6.280.000	5.580.000	5.280.000	4.960 000	5.100.000	5.000.000
Globules blancs	8.400	16.000	15.300	16.500	17.700	12.500	9.600	7.800
Formule leucocytaire. Pseudo-éosinophiles	34	47	53	70	61	56	56	45
Eosinophiles	1	0,5	1	—	0,5	3	0	0
Basophiles	3	2	—	2	1,5	2	1	2
Lymphocytes	58	36	30	17	28,5	31	33	41
Monocytes	4	15	15	11	14	8	7	7
Cellules de Türck	—	—	—	—	—	—	—	—

2.500.000 millimètres cubes pendant la période d'état de la maladie. Cette anémie disparaît chez les survivants 20 jours après l'inoculation du streptocoque. Les lapins qui n'ont reçu que du dinitrophénol ne présentent pas cette anémie, de même le nombre des globules blancs ne présente pas de modification notable chez ces animaux. Chez les lapins qui ont reçu le streptocoque associé ou non au dinitrophénol, on observe une leucocytose marquée 48 heures après l'inoculation, qui atteint son maximum entre le 4e et le 6e jour, et disparaît vers le 18e jour.

L'examen histo-pathologique des organes nous montre, chez les lapins qui n'ont reçu que du streptocoque par voie intra-pleurale, des lésions de dégénérescence des tubes urinaires et des infiltrations leucocytaires périvasculaires dans les organes. On observe, dans la moelle osseuse et dans la rate, une augmentation du taux des granulocytes. Chez les lapins auxquels nous avons associé le dinitrophénol au streptocoque, les lésions anatomo-pathologiques des organes portent l'empreinte combinée du toxique et de l'infection expérimentale.

Conclusions. — Nos recherches expérimentales sur l'action du dinitrophénol 2-4, administré aux lapins soit *per os*, soit en injections, nous permettent d'affirmer que cette substance provoque des altérations toxiques des polynu-

cléaires pseudo-éosinophiles, caractérisées par l'apparition de granulations toxiques dans leur protoplasme, ainsi que des lésions du noyau (pycnose, zones de vacuolisation). Nous n'avons pas observé une diminution du nombre des leucocytes, ni des variations du taux des granulocytes, dans la formule leucocytaire, qui dépasserait le chiffre normal.

En provoquant une suppuration expérimentale chronique par l'inoculation d'une culture de streptocoque dans la plèvre, chez des lapins soumis à une intoxication par le dinitrophénol, on ne modifie pas le nombre des leucocytes du sang périphérique. Le dinitrophénol n'entrave pas, par son action, les possibilités de défense des organes hématopoïétiques vis-à-vis d'une infection surajoutée, et ne diminue pas la résistance organique des lapins vis-à-vis de l'infection streptococcique.

BIBLIOGRAPHIE

1. Allen (F.-D.) et Benson (V.-M.) : « Late development of cataract following use of dinitrophenol about a Jear before. » (*J. A. M. A.*, 1935, 105, p. 795.)
2. Anderson (H.), Reed (C.) et Emerson (G.) : « Toxicity of alpha dinitrophenol. » (*J. A. M. A.*, 1935, p. 1053.)
3. Boardman (W.-W.) : « Rapidly developing cataract after dinitrophenol. » (*J. A. M. A.*, 1935, 105, p. 108.)
4. Bohn (S) : « Agranulocytic angina following ingestion of dinitrophenol. » (*J. A. M. A.*, 1934, 108, p. 250.)
5. Climenko (D.-R.) : « Inhibition of leucogenic activity in the rabbit by certain cyclic compounds. » (*Proc. Soc. Exp. biol. and Med.*, 1934-35, 32, p. 823.)
6. Cogan (D.-G) et Cogan (F.-C.) : « Dinitrophenol cataract. » (*J. A. M. A.*, 1935, 105, p. 793.)
7. Cutting (W.-C.), Mehrtens (M.-D.) et Tainter (M.-L.) : « Actions and uses of Dinitrophenol. » (*J. A. M. A.*, 1933, 101, p. 193.)
8. Cutting et Tainter (M.-L.) : « Metabolic actions of dinitrophenol. » (*J. A. M. A.*, 1933, 101, p. 2099.)
9. Danielopolu (D.), Marcu (I.), Petrescu (M.) et Gingold (N.) : « Sur les accidents produits par le benzène et par les substances médicamenteuses contenant un noyau benzénique (Dinitrophénol, arsénobenzène et substances de la formule pyramidon. » (*Off. int. Hyg. publ.*, 1936, 28, p. 699.)
10. Danielopolu (D.), Marcou (I.) et Gingold (N.) : « Les accidents produits par le benzène, le pyramidon et le dinitrophénol. Antagonisme du luminal. » (*Bull. Acad. Méd. de Paris*, 1935, 114, p. 342.)
11. Davidson (E.) et Shapiro (M.) : « Neutropenie following dinitrophenol with improvement after pentnucleotide and leukocyte cream. » (*J. A. M. A.*, 1934, 103, p. 480.)
12. Dintenfass (H.) (Philadelphia) : « An ear complication from dinitrophenol medication. » (*J. A. M. A.*, 1934, 102, p. 838.)
13. Frumess (Gérald) : « Allergic reaction to dinitrophenol. » (*J. A. M. A.*, 1934, 102, p. 1219.)

14. Geiger (J.-C.) : « A death from alpha-dinitrophenol poisoning. » (*J. A. M. A.*, 1933, 101, p. 1333.)
15. Goldman (A.) et Haber (M.) : « Acute complete granulopenia with death due to dinitrophenol poisoning. » (*J. A. M. A.*, 1936, 107, p. 2115.)
16. Hoffman (A.-M.), Butt (E.-M.) et Hickey (N.) : « Neutropenia following amidopyrine. » (*J. A. M. A.*, 1934, 102, p. 1213.)
17. Horner (W.), Jones (R.-B.) et Boardman (W.) : « Cataracts following the use of dinitrophenol. » (*J. A. M. A.*, 1935, 105, p. 108.)
18. Immerman (S.-W.) et Immerman (C.-N.) : « Dinitrophenol poisoning with trombocytopenia Granulopenia, anemia, and purpura complicated by lung abceses. » (*A. J. Med. Sciences*, 105, p. 1083.)
19. Jackson (H.) et Duval (A.) : « Dinitrophenol poisoning: Report of a case. » (*J. A. M. A.*, 1933, 102, p. 1844.)
20. Jounard (R.) : « Etat actuel de la physiologie des nitrophénols. » (*J. Phys. et Path. gén.*, 1935, 33, p. 533.)
21. Kniskern (D.-W.) : « Cataracts following Dinitrophenol. » (*J. A. M. A.*, 1935, 105, p. 794.)
22. Lazar (N.-K.) : « Cataract following the use of dinitrophenol. » (*J. A. M. A.*, 1935, 105, p. 794.)
23. Madison (F.-W.) et Squier (T.-L.) : « Primary granulocytopenia after administration of benzene chain derivations. » (*J. A. M. A.*, 1933, 101, p. 2075.)
24. Magne (H.), Mayer (A.) et Plantefol (L.) : « Etudes sur l'action pharmacologique du dinitrophénol 1-2-4 et des phénols nitrés. » (*Ann. physiol. et physico-chim. biol.*, 1932, 8, p. 150.)
25. Mayer (A.) et Vliès (I.) : « Etudes sur l'action pharmacologique du dinitrophénol 1-2-4 et des phénols nitrés. » (*Ann. physiol. et physico-chim. biol.*, 1932, 8, p. 176.)
26. Pouchet (M.) : « La thérapeutique dinitrée appliquée à la cure de l'obésité. » (*Presse méd.*, 1938, 68, p. 128.)
27. Rivoire (R.) : « Le dinitrophénol. » (*Presse méd.*, 38, 1934, p. 768.)
28. Schultzer (T.-L.) et Tainter (M.-L.) : « Cronic toxicity of dinitrophenol : renal function. » (*Proc. Soc. exp. biol. and Med.*, 1933, 31, p. 1163.)
29. Silver (S.-A.) : « A new danger in dinitrophenol therapy : agranulocytosis with fatal outcome. » (*Proc. Soc. exp. biol. and Med.*, 1933, 31,
30. Tainter (M.-L.), Cutting (W.-C.), Wood (D.-A.) et Proescher (F.) : « Dinitrophenol : studies of blood, urine and tissues of dogs on continued medication and after acute fatal poisoning. » (*Biolog. Abstr.*, 1936, 6, p. 1437.)
31. Tainter (M.-L.), Stockton (A.-B.) et Cutting (W.) : « Use of dinitrophenol in obesity and related conditions. » (*J. A. M. A.*, 1933, 101, p. 1472.)
32. Tainter (M.-L.) et Wood (D.-A.) : « A case of fatal dinitrophenol poisoning. » (*J. A. M. A.*, 1933, 102, p. 1147.)

THE POSITION OF HUMAN MALARIA OOCYSTS ON THE STOMACH OF *ANOPHELES MACULIPENNIS*

by

P.-G. SHUTE, F. R. E. S.

Assistant Malaria Officer, Ministry of Health's Malaria Laboratory, Horton Hospital, Epsom, Surrey.

Some years ago the writer (Shute 1935), described the effect of the salivary gland secretion of *Anopheles maculipennis* on the blood of man, animals and birds. It was shown that within a few seconds after the mosquito takes a meal, quite definite agglutination of the ingested blood occurs. The anterior end of the mid-gut becomes transparent but swollen with a colourless fluid, i. e. blood serum, while the agglutinated red cells collect at the posterior end. On examining some freshly fed *A. maculipennis* with the clear area at the anterior end and the heavy sedimentation of red blood corpuscles at the posterior end, the separation of the blood serum from the red cells and well defined clear area seemed to offer a possible explanation of why the malarial oocysts are more numerous at the posterior end of the stomach. It appeared to be obvious that the majority of the parasites must be deposited with the red cells and not in the serum. This being the case, then because of the resting attitude adopted by *Anopheles*, it would be necessary for the ookinetes to travel almost perpendicularly through the blood clot if they were destined to reach the anterior end of the stomach. Huff (1934) considers that the greater abundance of oocysts near the posterior end of the stomach is a question of mechanical distribution of the parasites due to the action of gravity on the heavier elements of the blood when the insect rests with its head directed upwards.

Following the observation that the cells congregated in the *anterior* part of the stomach of *A. maculipennis* when the insect was kept with its head downwards, some experiments were

ARCH. ROUM. DE PATHOL. EXPÉR., T. **11**, N° 3, SEPTEMBRE 1938.

made to determine what effect this had upon the distribution of the oocysts.

On an average an *A. maculipennis* takes about two minutes to complete a blood meal. By the time it has finished feeding the blood and serum have already separated so that to get the serum at the posterior end of the stomach the insect has to be stood on its head almost immediately after a blood meal.

To test the theory that gravitation played an important rôle on the distribution of oocysts, the following technique was evolved.

Pieces of narrow glass tubing about an inch long were plugged at one end with cotton wool. A batch of mosquitoes were allowed to feed one at a time upon a suitable host. As soon as the insect had finished its blood meal, it was captured and inserted in a piece of glass tubing and the end plugged with cotton wool sufficiently tightly to prevent the insect moving. The tube was then turned so that the insect was standing on its head and the tube fixed in this position. With practice it was found possible to place an insect in the inverted position within a few seconds of completing its feed. In the inverted insects the blood cells now accumulated at the anterior end of the stomach and not in the posterior end as is normally the case.

The insects were kept in this inverted position for 48 hours to allow of the penetration of the ookinetes. They were then examined individually to see that they had retained their inverted position during this period and those which had, were afterwards treated like ordinary infected insects, fed on normal blood and dissected on the 8th day after the infective feed, and kept at a temperature of 24° C. The mid-gut was then dissected, fixed and stained in the ordinary way.

As only about 20 % survived the ordeal of standing on their heads for 48 hours, it was necessary to use large numbers of insects in order to obtain sufficient survivals for comparison with the control insects which had been fed at the same time but were not inverted.

By referring to the plates accompanying this paper it will be seen that the position of the oocysts was, to some extent, influenced by the orientation of the insect, during the first 48 hours after the infective feed i. e. while the ookinetes were in the process of penetrating the wall of the mosquito's stomach.

DESCRIPTION OF EXPERIMENTS

CONTROL SERIES. HEAD UPWARDS (Plate I) (fig. 1-12). — Fig. 1, 2, 3 and 9 show a moderate infection with the oocysts occupying the posterior 2/3rds. of the stomach. The others show a tendency for the oocysts to occupy a larger area of the stomach, possibly due to the severity of the infection. Fig. 12 shows an intense infection but there is a small area free from oocysts at the extreme anterior end.

EXPERIMENTAL SERIES. HEAD DOWNWARDS (Plate II) (fig. 13-24). — Fig. 13 and 14 show the oocysts congregated at the anterior end of the stomach. Fig. 15 shows the oocysts occupying the middle two thirds of the stomach. Fig. 17, 19, 20, 21 and 22 show a fairly even distribution of oocysts while fig. 16, 18, 23 and 24 show masses of oocysts congregated at one portion and a large number scattered over the remainder of the stomach. In most of these the oocysts are to be seen situated further anteriorly than is usually the case with mosquitoes kept in the normal position.

As these experiments indicate that the resting position of *A. maculipennis* does, at least to some extent, influence the position of oocysts, it was decided to make a similar experiment with a species of Culicine. Some *Aedes ægypti* were infected with *Plasmodium gallinaceum* and the above experiment repeated. The amount of material available was small, but the reversed position of this species did not seem to influence the position of the oocysts to such an extent as in the case of *A. maculipennis*.

As already stated in a previous paper, Shute 1935), the salivary gland secretion of *Aedes ægypti* does not produce agglutination of blood. After a blood meal by this species, the blood completely fills the mid-gut and there is no rapid separation of the blood into a cellular and a fluid portion as in *A. maculipennis*. In these circumstances one would not expect to find that position would have much influence on the distribution of the oocysts, and that such is the case is shown by the experiment with *P. gallinaceum* in *Aedes ægypti*.

To show the importance of the effect of the resting position of the two species concerned in this experiment the accompanying diagram (Plate III) may be helpful.

Plate I.

FIG. 1-12. — *A. maculipennis.* Distribution of oocysts on stomach with abdomen in normal position. Note the tendency of oocysts to be situated at the posterior end of the stomach.

Plate II.

FIG. 13-14. — *A. maculipennis.* Distribution of oocysts on stomach when the insect has been kept in an inverted position for 48 hours. Note the tendency of the oocysts to be more abundant at the anterior end of the stomach than is normally the case.

Plate III.

FIG. 1 and 2. — *A. maculipennis.* B = blood; S = serum; normal resting position.

FIG. 3 and 4. — *Aedes ægypti.* No clear area (Separation of serum).

FIG. 5. — *A. maculipennis.* Mosquito held in position in glass tubing with head upward and showing the blood deposited at the posterior end of the stomach and the serum at the anterior end.

FIG. 6. — *A. maculipennis.* Mosquito held in inverted position in glass tubing with head downward and showing the blood cells at the anterior end of the stomach and the serum at the posterior end.

REFERENCES

SHUTE (P.-G.) (1935) : « Agglutination of the Red Blood Corpuscles of Man, Animals and Birds by the Salivary Glands of *Anopheles maculipennis.* » (*Journ. Trop. Med. and Hyg.*, vol. 38, n° 22, nov. 15th, 1935.)

HUFF (C.-G.) (1934) : *Amer. Journ. Hyg.*, vol. 19, pp. 123-147.

Le Gérant : J. CAROUJAT. Imprimé par F. Soulisse-Martin, à Niort (France).

PLATE I.

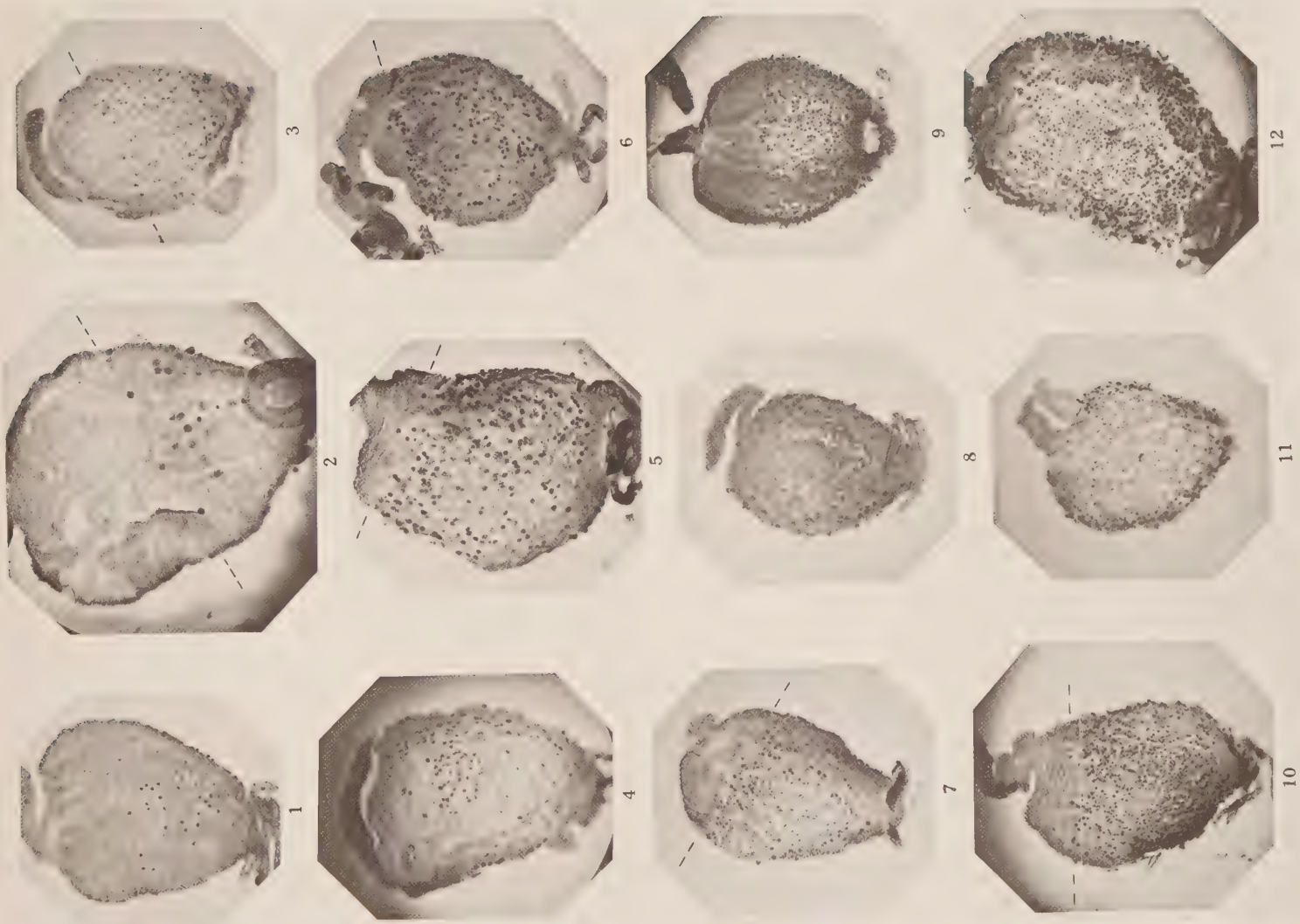
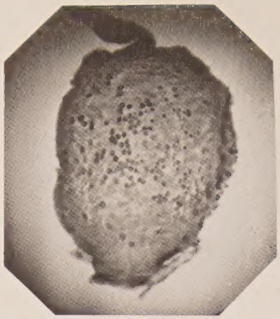


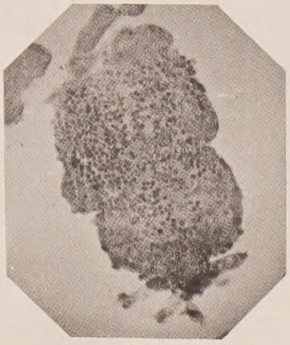
PLATE II.

13

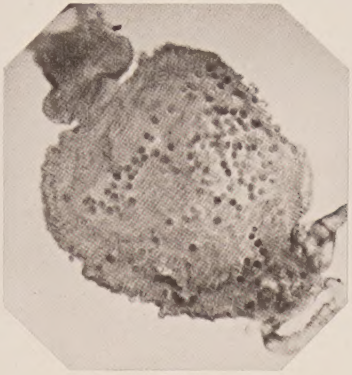
14



15

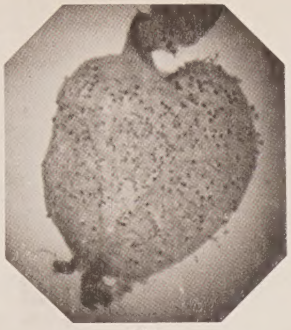


16

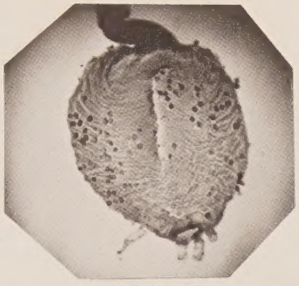


17

18



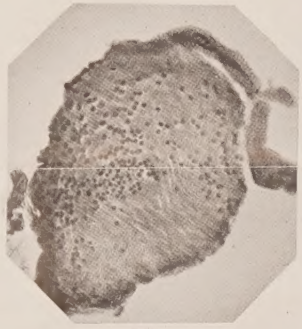
19



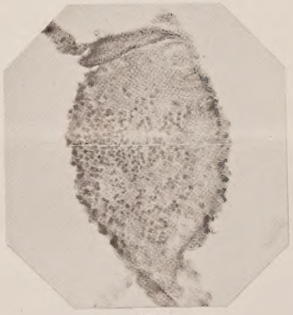
20

21

22



23



24

Archives Roumaines. — T. 11, N° 3, Septembre 1938.

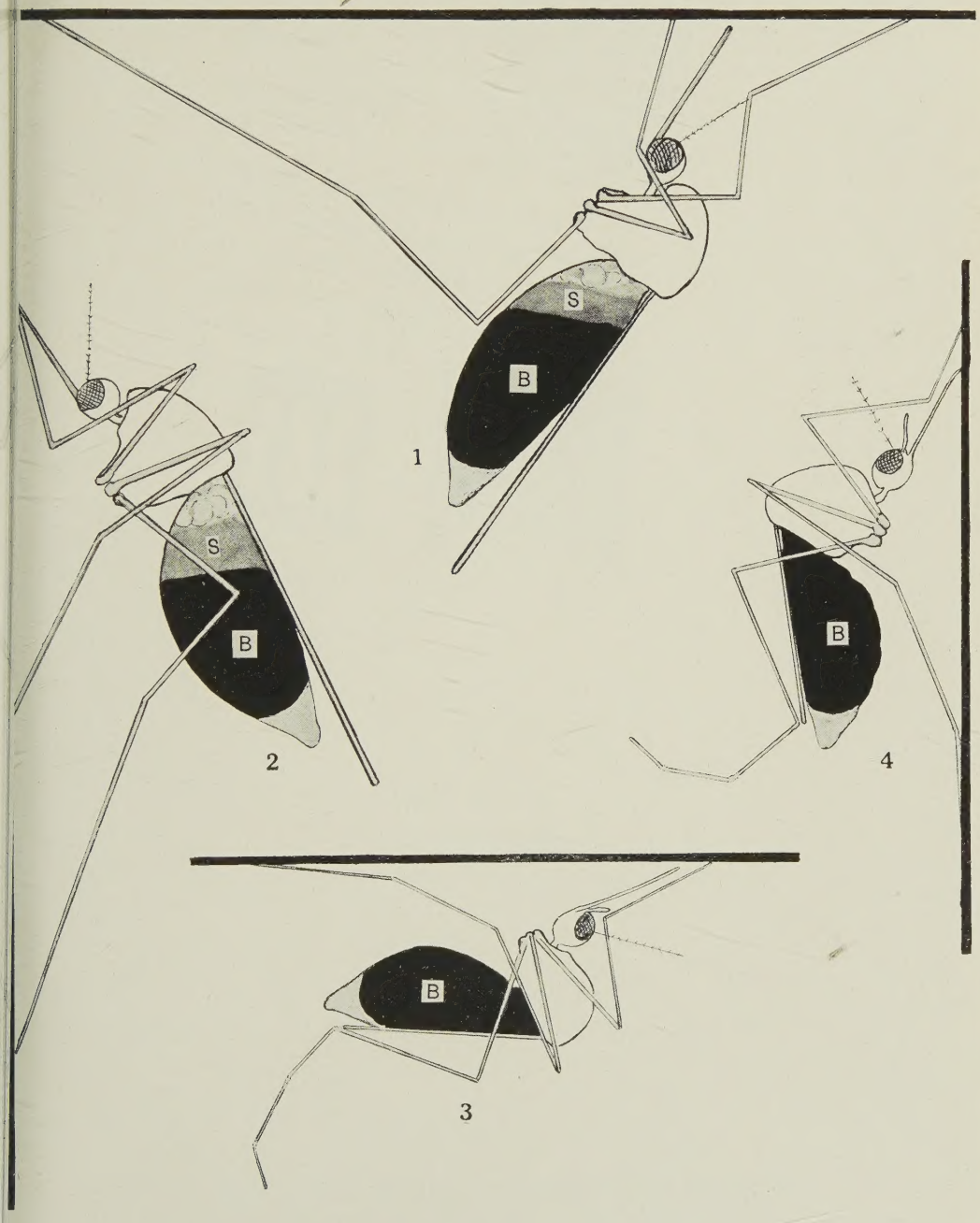
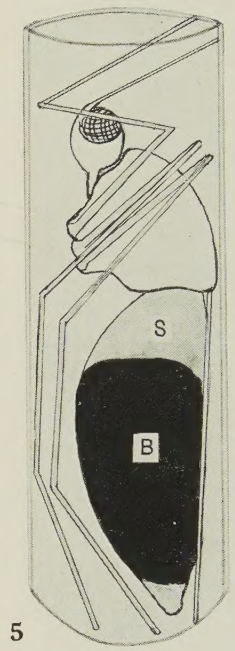
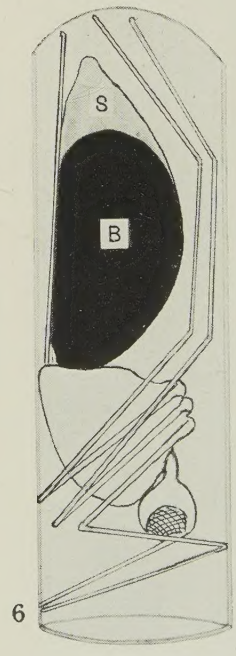



PLATE III.